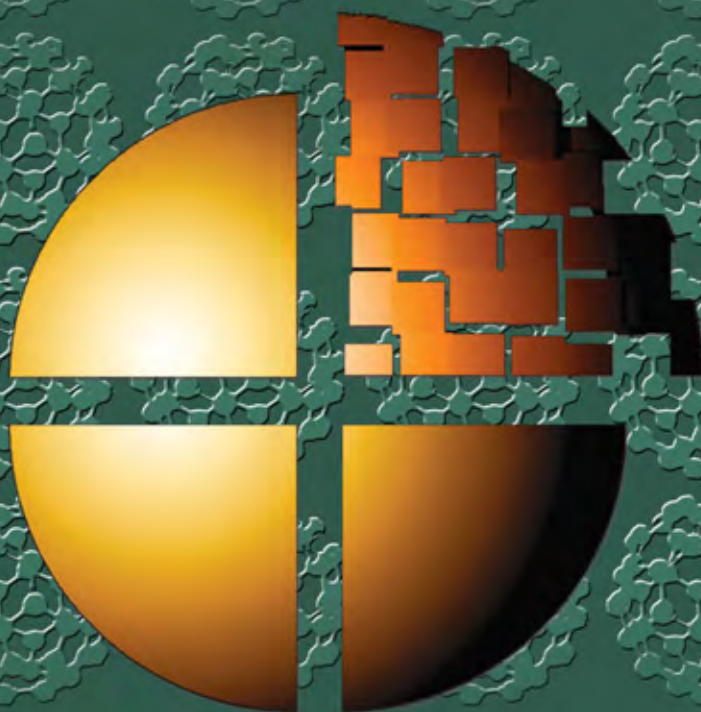


● ● ● Н А Н О Т Е Х Н О Л О Г И И ● ● ●

НАНО- И БИОКОМПЗИТЫ



ИЗДАТЕЛЬСТВО

БИНОМ

НАНО- И БИОКОМПОЗИТЫ

NANO- AND BIOCOMPOSITES

Edited by

**Alan Kin-Tak Lau
Farzana Hussain
Khalid Lafdi**



CRC Press

Taylor & Francis Group
Boca Raton London New York

CRC Press is an imprint of the
Taylor & Francis Group, an **informa** business

НАНО- И БИОКОМПОЗИТЫ

Под редакцией
Алана Кин-Так Лау
Фарзаны Хуссейн
Халида Лафди

Перевод с английского
д-ра хим. наук И. Ю. Горбуновой,
канд. хим. наук Т. П. Мосоловой

Под общей редакцией
д-ра хим. наук И. Ю. Горбуновой

Электронное издание



Москва
БИНОМ. Лаборатория знаний
2015

УДК 541:547+57.017-022.532
ББК 30.36+28.072+24.7
Н25

Серия основана в 2006 г.

Перевод с английского
д-ра хим. наук И. Ю. Горбуновой (гл. 2, 3, 4, 6, 7, 8);
канд. хим. наук Т. П. Мосоловой (гл. 1, 5, 9, 10, 11, 12)
под общей редакцией
д-ра хим. наук И. Ю. Горбуновой

Нано- и биокмпозиты [Электронный ресурс] /
Н25 под ред. А. К.-Т. Лау, Ф. Хуссейн, Х. Лафди ; пер. с англ. —
Эл. изд. — Электрон. текстовые дан. (1 файл pdf : 393 с.). —
М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. — (Нанотехнологии). —
Систем. требования: Adobe Reader XI ; экран 10".

ISBN 978-5-9963-2914-4

Книга представляет собой обзор исследований последних лет, посвященных изучению усиленных нанопополнителями композиционных материалов — нанокомпозитов и бионанокомпозитов. Затронуты темы получения, переработки, оценки свойств этих усовершенствованных материалов, которые разрабатывают для решения самых разных задач, в том числе получения продуктов медико-биологического назначения. Рассмотрены достижения тканевой инженерии, в которой активно используются биоразлагаемые полимерные композиционные материалы. Приведены результаты изучения биосовместимости полимерных наноматериалов в условиях *in vitro* и *in vivo*. В отдельной главе книги рассмотрены способы оценки токсичности наноматериалов и подходы для разработки методов этого анализа.

Для студентов и аспирантов, специализирующихся в области химической технологии, нанотехнологий и биотехнологий, а также специалистов, связанных в своей профессиональной деятельности с материалами биологического назначения.

УДК 541:547+57.017-022.532
ББК 30.36+28.072+24.7

Деривативное электронное издание на основе печатного аналога: Нано- и биокмпозиты / под ред. А. К.-Т. Лау, Ф. Хуссейн, Х. Лафди ; пер. с англ. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. — 390 с. : ил. — (Нанотехнологии). — ISBN 978-5-9963-0805-7.

ISBN 978-5-9963-2914-4

© 2010 by Taylor and Francis Group, LLC
All Rights Reserved.
Authorized translation from English
language edition published by CRC Press,
part of Taylor & Francis Group LLC
© БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	8
О редакторах	10
Авторы	13
Часть 1. Наноструктурированные полимерные композиты	15
Глава 1. Полимерные композиты на основе углеродных нанотрубок	17
1.1. Введение	17
1.2. Свойства углеродных нанотрубок	18
1.3. Производство полимерных композитов на основе нанотрубок	26
1.4. Свойства межфазной поверхности композитов на основе нанотрубок	29
1.5. Заключение	33
Литература	34
Глава 2. Переработка, реологические и другие свойства полимерных нанокомпозитов на основе углеродных нановолокон	37
2.1. Введение	37
2.2. Очистка и термообработка нановолокон	39
2.3. Влияние адгезии между нановолокном и матрицей на свойства полимерных нанокомпозитов	47
2.4. Анализ на нанометрическом уровне	58
2.5. Исследование межфазной области	59
Литература	67
Глава 3. Реология нанокомпозитов полимер/глина: развитие мезомасштабной структуры и динамика мягких стекол . . .	71
3.1. Введение	71
3.2. Линейные вязкоупругие свойства	72
3.3. Нелинейный сдвиговый отклик	78
3.4. Аналогия с мягкими коллоидами	80
3.5. Обратимость процесса образования сетки	80
3.6. Выравнивание силикатных слоев в сетках	85
3.7. Заключение	90
Литература	90

Глава 4. Полимерные нанокомпозиты с графитовыми наполнителями	93
4.1. Введение	93
4.2. Наноструктурированный графит	95
4.3. Нанокомпозиты полимер/графит	101
4.4. Заключение	116
Благодарность	117
Литература	117
Глава 5. Горючесть и огнестойкость полимерных нанокомпозитов	124
5.1. Введение	124
5.2. Горючесть полимерных нанокомпозитов	126
5.3. Комбинирование полимерных нанокомпозитов с традиционными огнеупорными материалами	137
5.4. Создание эффективных огнеупорных полимерных нанокомпозитов	139
5.5. Выводы, потенциальные возможности и направления исследований огнеупорных полимерных нанокомпозитов	141
Благодарности	145
Литература	145
Часть 2. Нанобиокомпозиты	157
Глава 6. Армированные волокнами биокомпозиты животного происхождения	159
6.1. Введение	159
6.2. Шелковые волокна шелковичного червя	161
6.3. Волокна куриных перьев	168
6.4. Выводы	175
Литература	175
Глава 7. Биополимерные волокна для тканевой инженерии	178
7.1. Наука о наноматериалах и тканевая инженерия	178
7.2. Биоразлагаемые и биорезорбируемые полимеры	183
7.3. Композиты нанобиополимеров	194
7.4. Заключение	201
Литература	202
Глава 8. Потенциал использования полигидроксиалканоатов для создания биокомпозитов	209
8.1. Введение	209
8.2. Полигидроксиалканоаты	213
8.3. Нанобиокомпозиты на основе ПГА	217
8.4. Заключение	234
Благодарности	236
Литература	236

Глава 9. Редукционистский подход к изучению молекулярной и надмолекулярной структуры эластина	245
9.1. Молекулярная структура эластина.	245
9.2. Редукционистский подход	248
9.3. Надмолекулярная структура эластина.	252
9.4. Заключение	260
Литература	261
Глава 10. Эластин и полимеры на его основе	267
10.1. Введение	267
10.2. Тропоэластин	273
10.3. Полимеры, содержащие тропоэластин и его производные	278
10.4. Применение полимеров на основе эластина	282
10.5. Заключение	287
Благодарности	287
Литература	287
Глава 11. Био- и нанокompозиты на основе полимолочной кислоты	294
11.1. Введение	294
11.2. Биокompозиты	295
11.3. Нанокompозиты	303
11.4. Заключение	306
Литература	307
Глава 12. Строение наноматериалов и их токсичность	310
12.1. Введение	310
12.2. Наноматериалы и нанотехнология	312
12.3. Потенциальная опасность наноматериалов	321
12.4. Способы оценки токсичности	326
12.5. Токсичность наноматериалов	331
12.6. Получение характеристик наноматериалов и определение цитотоксичности по конечной точке	338
12.7. Углеродные наноматериалы	352
12.8. Заключение	369
Литература	372
Предметный указатель	386

ПРЕДИСЛОВИЕ

Новые полимерные наноконпозиционные материалы приобретают популярность благодаря своим уникальным механическим, тепловым и электрическим свойствам. Однако одновременно с этим обостряется проблема изучения, предсказания и ликвидации их потенциального вредного воздействия на человека и окружающую среду. Широкое распространение наноматериалов может приводить не только к замечательным результатам, но и к негативным последствиям. Это учитывается в государственном бюджете США, и в ближайшее время ожидается увеличение объема финансирования, выделяемого на исследования наноконпозиционных материалов.

В последние годы возможность применения нанополимеров для биологических целей активно изучалась в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Была исследована биосовместимость этих полимерных материалов при использовании в качестве имплантатов костей и зубов, средств для заживления ран и т. д. Были открыты новые природные и синтетические материалы для применения в тканевой инженерии. В частности, для восстановления костной ткани предложено использовать шелковое волокно, а также биоразлагаемые полимерные композиционные материалы. Многие исследователи продемонстрировали возможность использования наноструктурированных материалов, таких как нанопатит, наноглина и нановолокна (на основе полимеров или углеродных нанотрубок), для повышения механической прочности и термостабильности биополимеров, из которых изготавливают искусственные суставы. Тканевая инженерия чрезвычайно активно использует достижения современной науки для воссоздания и инициации роста живой ткани. Тканеинженерные продукты позволяют снизить потребность в экспериментах на животных.

Нанобиотехнология представляет собой междисциплинарную область исследований, объединяющую биотехнологию, материаловедение и нанотехнологию, поэтому в книге содержатся результаты самых разных исследований, но имеющих одну цель — создание усовершенствованных материалов и биомедицинских технологий. В настоящее время нанотехнология и биотехнология относятся к разряду наиболее быстро развивающихся областей науки и инженерии.

Книга содержит 12 глав, организованных в виде двух частей: «Наноструктурированные полимерные композиты» и «Нанобиокомпозиты». В первой части изложены основные представления о наноматериалах и нанокompозитах и описана способность наполнителей усиливать полимерные материалы. Вторая часть в основном посвящена использованию наноструктурированных наполнителей и природных волокон для улучшения свойств биоразлагаемых и биосовместимых полимеров с целью создания новых типов biomатериалов и решения более широкого круга биомедицинских проблем. Заключительная глава книги посвящена проблеме токсичности наноструктурированных материалов. Следует отметить, что исследователи долгое время не уделяли должного внимания этой важной теме.

Все авторы, участвовавшие в создании книги, многие годы работают в данной области исследований. Они выражают признательность тем, кто участвовал в создании книги и потратил на это много времени и сил. Значительную помощь в выпуске оригинальной версии книги оказало издательство CRC Press/Taylor & Francis Group. Мы надеемся, что данная книга для многих ученых и специалистов станет важным источником информации о состоянии исследований нано- и biomатериалов, а также в новой области исследований, посвященных изучению нанобиоматериалов.

Алан К.-Т. Лау

Политехнический университет Гонконга,
Национальный университет Чонбук (Южная Корея)

Фарзана Хуссейн

Университет штата Орегон (Корваллис, США)

Халид Лафди

Исследовательский институт
Университета Дейтона (Огайо, США)

О РЕДАКТОРАХ

Алан К.-Т. Лау в 1997 г. закончил Мельбурнский Королевский технологический институт (RMIT) с дипломом инженера аэрокосмической промышленности. Одновременно с учебой он работал в системе сервисного обслуживания авиационной техники и Исследовательском центре новых композиционных материалов (CRC-ACS) в Австралии над разработкой схем восстановления и технологий композиционных материалов. В 2001 г. защитил диссертацию в Политехническом университете Гонконга. С 2002 г. работал в должности старшего преподавателя, а с 2005 г. — доцента этого университета. В настоящее время также является приглашенным профессором Новорлеанского университета (Луизиана), Ланьчжоуского университета (Китай), Китайского Океанологического университета (Китай) и Университета Южного Квинсленда (Австралия).

За выдающиеся исследования в области новых композиционных материалов и наноматериалов Алан К.-Т. Лау удостоен многочисленных премий и наград, в числе которых награда за лучшую статью по материаловедению (1998), мемориальная стипендия сэра Эдварда Юда (2000), стипендия для молодых ученых (2002), премия для лучших молодых инженеров года (2004), премия факультета за выдающиеся заслуги в научной и преподавательской деятельности (2005), премия за выдающиеся достижения в области нанокompозитов для космических исследований (2006), премия журнала *Chemical Physics Letters* за наиболее часто цитируемую статью 2003–2007 гг. (2007), а также Президентская премия для преподавателей (2008). В 2007 г. за значительный вклад в развитие науки и инженерии в области нанокompозиционных материалов был выбран членом Европейской академии наук. Также удостоен международной премии Эрнста Л. Бойера на 20-й Международной конференции преподавателей в США (2009).

Является автором более чем 190 печатных работ, которые с 2002 г. цитировались свыше 1000 раз. Согласно данным Томсона Рейтера три его статьи входили в 1% наиболее часто цитируемых статей в соответствующей области исследований в 2007 и 2008 гг. Алан К.-Т. Лау активно внедряет результаты своих научных разработок в практику и является автором восьми патентов. В настоящее время он входит в состав более 40 американских и международных коллективов в качестве

председателя, члена комитета или редактора. В 2007 г. Алан К.-Т. Лау стал членом Института инженеров-механиков Австралии, председателем гонконгского отделения Института инженерного дизайна (Великобритания), президентом гонконгского отделения Общества инженеров Австралии и вице-президентом гонконгского отделения Американского общества инженеров-механиков. Он также являлся председателем 1-й Международной конференции по многофункциональным материалам и структурам.

Фарзана Хуссейн занимается изучением композиционных материалов с 2000 г., уделяя основное внимание синтетическим полимерным волокнам, нанокомпозитам и биокompозитам. В Университете штата Орегон она работает над получением, моделированием и оценкой свойств биокompозитов. В 2006 г. Хуссейн выполнила работу для Института нанонауки и микронанотехнологии Орегона, а до этого участвовала в техническом проекте по созданию полимерных нанокомпозитов для аэрокосмической промышленности в Центре аэрокосмической технологии в Канаде. Там же она занималась разработкой и оценкой методов производства и изучения сложных композиционных материалов на основе жидких композитов для целей самолетостроения.

Хуссейн является автором большого числа печатных работ, активно участвует в конференциях, является научным консультантом в редакциях журналов *Journal of Composite Materials*, *Composite Science and Technology* и *Journal of Advanced Materials*. Ее полный и обстоятельный обзор, посвященный полимерным композитам, опубликованный в *Journal of Composite Materials* в 2006–2009 гг., отмечен как самая читаемая работа. Фарзана Хуссейн — активный член Общества женщин-инженеров и Американского института аэронавтики и астронавтики.

Халид Лафди — профессор Университета Дейтона и руководитель научной группы в Исследовательском институте при этом университете. С 1994 по 2000 г. Лафди работал в Центре изучения трения при Университете Южного Иллинойса в Карбондейле. Он является уважаемым специалистом в области технологий получения и изучения соединений углерода. В 1991 г. Лафди защитил диссертацию под руководством Агнес Оберлин, посвященную технологии получения и изучению соединений углерода в различном масштабе — от макро- до наноуровня.

С 1994 г. в Университете Южного Иллинойса Лафди начал проводить исследования, посвященные применению углеродных материалов для различных целей — как нового типа материалов для изготовления электродов, самолетных шасси, компонента нанокомпозитов и др. В 2001 г. он был приглашен на работу в качестве научного сотрудника и профессора Университета Дейтона для развития нанотехнологического направления. В 2004 г. благодаря его инициативе в Университете Дейтона открылась кафедра наноинженерии, науки и технологии, а в 2007 г. в Исследовательском институте при Университете Дейтона — лаборатория по исследованию углерода. Эта лаборатория занимается созданием, оценкой свойств и моделированием различных гибридных материалов на основе углерода. В последние годы Лафди

занят созданием новой лаборатории, занимающейся проблемами тепла и энергии. При Национальном центре композиционных материалов в Огайо он основал предприятие, производящее разные наноматериалы в промышленном масштабе.

Лафди является автором более 140 научных статей и обзоров, запатентовал четыре изобретения. Его обширный опыт в области гибридных углеродных материалов полезен на любом этапе разработки — от изучения фундаментальных свойств до промышленного производства.

АВТОРЫ

Люк Аверус (Luc Averous)

Лаборатория конструкционных полимеров для высоких технологий, Европейская школа химии, полимеров и материаловедения, Страсбургский университет, Франция

Бриджида Бочикьо (Brigida Bochicchio)

Химический факультет Университета Базиликаты, Потенца, Италия

Перрин Бордес (Perrine Bordes)

Лаборатория конструкционных полимеров для высоких технологий, Европейская школа химии, полимеров и материаловедения, Страсбургский университет, Франция

Гуохуа Чен (Guohua Chen)

Институт полимеров и наноматериалов, Национальный университет Хуацяо, пров. Фуцзянь, Китай

Хой-Ян Чунг (Hoi-Yan Cheung)

Гонконгский политехнический университет, Коулун, Гонконг

Ганс-Петер Финк (Hans-Peter Fink)

Институт прикладных полимерных исследований имени Фраунхофера, Германия

Йоханнес Ганстер (Johannes Ganster)

Институт прикладных полимерных исследований имени Фраунхофера, Германия

Кристин Грабински (Christin Grabinski)

Исследовательский институт Университета Дейтона, Огайо, США

Дианна Гуерра (Deanna Guerra)

Университет Модены и Реджио-Эмилия, Модена, Италия

Ягита Кришнамачари (Yogita Krishnamachari)

Университет штата Айова, США

Александр Б. Морган (Alexander B. Morgan)

Исследовательский институт Университета Дейтона, Огайо, США

Масами Окамото (Masami Okamoto)

Технологический институт «Тойота», Япония

Антониетта Пепе (Antonietta Pepe)

Химический факультет Университета Базиликаты, Потенца, Италия

Эрик Поллет (Eric Pollet)

Лаборатория конструкционных полимеров для высоких технологий, Европейская школа химии, полимеров и материаловедения, Страсбургский университет, Франция

Даниэла Куаглино (Daniela Quaglino)

Университет Модены и Реджио-Эмилия, Модена, Италия

Ивонна Паскуали-Ронкетти (Ivonne Pasquali-Ronchetti)

Университет Модены и Реджио-Эмилия, Модена, Италия

Эйлиэс К. Сэлем (Aliasger K. Salem)

Химический факультет Университета штата Айова, США

Антонио Марио Тамбурро (Antonio Mario Tamburro)

Химический факультет Университета Базиликаты, Потенца, Италия

Вайфенг Чжао (Weifeng Zhao)

Колледж материаловедения и инженерии, Национальный университет Хуацяо, пров. Фуцзянь, Китай

Часть 1

Наноструктурированные полимерные композиты

ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

Алан Кин-Так Лау

Политехнический университет Гонконга

1.1. Введение

Наноструктурированные углеродные материалы, такие как технический углерод и нанотрубки, лучше всего подходят для создания армированных полимерных композитов. После того как примерно 15 лет назад японский исследователь Сумио Ииджима открыл углеродные нанотрубки, активизировались многочисленные исследования, направленные на улучшение механических и тепловых свойств этих материалов для их практического применения в составе полимеров и полимерных композитов. Экспериментальные исследования на микро- и наноуровне, компьютерный анализ с помощью молекулярно-динамического (МД) моделирования с последующим упрощенным анализом методом конечных элементов (МКЭ), а также теоретические исследования последних лет привели к обнаружению новых удивительных свойств нанотрубок. Все эти исследования доказали, что механические, электрические и тепловые свойства нанотрубок определяются в первую очередь структурной организацией связей углерод–углерод. Тип структурной организации атомов углерода в нанотрубках называют хиральным. В идеальной системе все атомы углерода в нанотрубках связаны ковалентными связями, и в каждом слое они образуют повторяющиеся и плотно упакованные гексагональные структуры. Благодаря такому естественному способу организации атомов, нанотрубки — один из наиболее прочных материалов. В последние годы появились сообщения о перспективах применения нанотрубок в качестве зондов для атомно-адсорбционной микроскопии, проводящих устройств для искусственных мышц, нанотермометров и запасающих элементов для топливных водородных ячеек [1–4]. В США значительные инвестиции делаются в разработку топливных ячеек на основе нанотрубок, накапливающих и хранящих внутри водород; такие ячейки предполагается использовать в разного рода микроэлектромеханических (МЭМ) и даже нанозлектромеханических (НЭМ) устройствах. В ближайшем будущем водородные топливные ячейки могут стать альтернативой традиционному топливу, применение которого сопровождается активным выбросом углекислого газа и ухудшает состояние окружающей среды.

Около десяти лет назад нанотрубки начали использоваться с целью армирования полимеров и композитов на основе полимерных волокон. Идея заключается в изменении или улучшении механических, тепловых, электрических и трибологических свойств материалов для их применения в космической индустрии, самолетостроении и строительстве. Некоторое время назад эти наноструктурированные материалы снова привлекли внимание исследователей в связи с возможностью их использования для производства биоразлагаемых и термостойких полимеров. Для достижения этих целей следует провести следующую исследовательскую работу: 1) подробнее изучить механические свойства одностенных и многостенных углеродных нанотрубок; 2) найти оптимальный способ производства композитов на основе полимеров и нанотрубок; 3) изучить свойства поверхности раздела между нанотрубками и матрицей; 4) доказать увеличение прочности композитов в результате смешивания полимеров с нанотрубками. В этой области еще многое предстоит узнать и уточнить, поскольку остается множество вопросов, связанных со свойствами нанотрубок и их включением в полимерные композиты.

В данной главе вниманию читателя представлен критический обзор результатов, посвященных полимерным композитам на основе углеродных нанотрубок. Ни один из названных аспектов проблемы не может рассматриваться отдельно, поэтому обсуждается комплекс исследований. Поскольку ниже также будут рассмотрены механические свойства композитов нанотрубок и полимеров, кратко остановимся на фундаментальных физических закономерностях, определяющих образование связей между атомами углерода в нанотрубках.

1.2. Свойства углеродных нанотрубок

1.2.1. Экспериментальные методы анализа

Идеальная одностенная углеродная нанотрубка (ОУНТ) имеет структуру плоского листа графена, свернутого в трубку с запаянными округлыми краями. Все атомы углерода химически связаны друг с другом и образуют плотные гексагональные листы, формирующие продольную структуру. Если в трубку сворачивается не один лист графена, а несколько, то образуется многостенная углеродная нанотрубка (МУНТ). Зазор между слоями определяется размером атомов углерода и уровнем их потенциальной энергии. В различных нанотрубках этот параметр меняется в незначительной степени. К сожалению, поскольку диаметр нанотрубок составляет несколько нанометров, традиционные методы не позволяют непосредственно измерять их механическую прочность. Чтобы понять, насколько различаются между собой «идентичные» нанотрубки, необходимо проанализировать свойства трубок одинакового размера с идентичным расположением атомов. Ю с сотрудниками [5] предприняли попытку синтезировать МУНТ на острие атомно-силового микроскопа и провели тест на растяжение путем перемещения одного

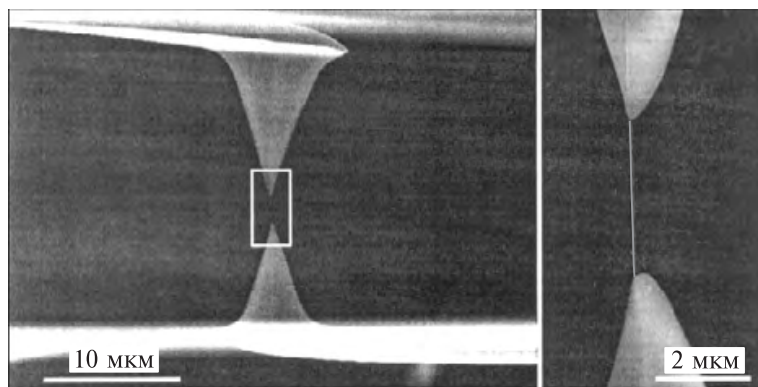


Рис. 1.1. Изображение нанотрубки, образовавшейся между остриями атомно-силового микроскопа до приложения нагрузки. Получено с помощью сканирующего электронного микроскопа

острия, измеряя при этом растяжение нанотрубки и приложенную нагрузку. За процессом растяжения следили с помощью сканирующего электронного микроскопа (рис. 1.1). Как отмечалось выше, создать идентичные нанотрубки для экспериментов практически невозможно. В данной работе было показано, что значения модуля Юнга для синтезированных трубок менялись в широких пределах — от 0,32 ТПа до 1,47 Па. Следует отметить, что при приложении нагрузки сначала почти полностью разрушался внешний слой трубки, и значит именно он принимает на себя основную часть нагрузки. Таким образом, теоретически МУНТ с большим диаметром может выдерживать большую нагрузку, чем МУНТ с меньшим диаметром. Впрочем, это предположение противоречит данным, полученным с помощью континуальных моделей и МД-моделирования.

При косвенном определении растяжимости МУНТ Демчик с соавторами [6] получили значение предела прочности МУНТ около 0,15 ТПа, что значительно ниже теоретического значения, рассчитанного на основании известных свойств слоя графена (~1 ТПа). В разрушенных нанотрубках были отмечены изменения структуры телескопического характера. Эти результаты соответствуют результатам другого исследования [7], в котором было показано, что слабые силы ван-дер-ваальсова притяжения между отдельными слоями МУНТ обуславливают чрезвычайно малую силу трения между слоями, так что все внутренние слои практически свободно скользят друг относительно друга в продольном направлении (рис. 1.2). В результате при растяжении внутренние слои не вносят никакого вклада в прочность нанотрубки. Ки с соавторами также определяли значения модуля Юнга для МУНТ методом вдавливания [8]. С помощью индентора надавливали на растянутые в вертикальном направлении нанотрубки, измеряли жесткость нанотрубок при изгибе и сравнивали экспериментальные данные с теоретическими, получен-

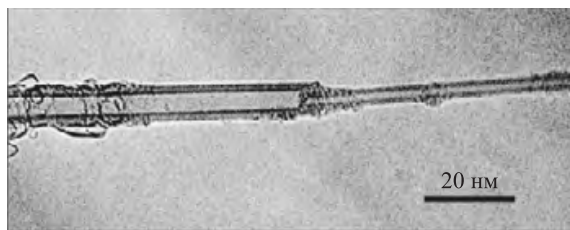


Рис. 1.2. Телескопические изменения, происходящие в многостенных нанотрубках [7]

ными с помощью классических методов расчета. Эффективный модуль изгиба и модуль упругости в продольном направлении принимали значения в диапазоне от 0,91 до 1,24 ТПа и от 0,90 до 1,23 ТПа соответственно. Поскольку в расчетах не учитывается неэффективность перераспределения нагрузки между слоями нанотрубки, особенно в случае изгиба, данные оценки соответствуют истинным значениям модулей упругости нанотрубок.

1.2.2. Теоретические исследования и молекулярно-динамическое моделирование

Как отмечалось выше, чрезвычайно малый размер нанотрубок не позволяет определять их механические свойства традиционными методами. В последнее время для решения широкого круга задач находят применение методы компьютерного моделирования, что связано с постоянным увеличением объема памяти и быстродействия современных компьютеров. Так, предпринимались активные попытки использования МД-моделирования для предсказания свойств углеродных нанотрубок. Поскольку точность результатов моделирования в значительной степени зависит от размера модели, объема памяти и мощности компьютера, опубликованные данные довольно сильно различаются по характеру исходных допущений, методам анализа и полученным значениям.

Ту и Оу-Янг для оценки механических свойств ОУНТ и МУНТ использовали метод аппроксимации локальной плотности в сочетании с теорией упругих оболочек [9]. Они обнаружили, что значения модуля Юнга для МУНТ снижаются при увеличении числа слоев нанотрубки. Модуль Юнга нанотрубки можно определить с помощью уравнения

$$E_m = \frac{n}{n-1 + \frac{t}{d}} E_s, \quad (1.1)$$

где E_m и E_s — модули Юнга для МУНТ и ОУНТ, а n , t и d — число слоев, средняя толщина слоя ($\sim 0,75$ Å) и расстояние между слоями ($\sim 0,34$ Å) соответственно. Кроме того, авторы статьи перешли к непрерывному пределу и показали, что для анализа деформации нанотрубок можно использовать классическую теорию упругих оболочек. Из сравнения

этих данных с приведенными ранее экспериментальными результатами видно, что увеличение числа слоев нанотрубок не коррелирует линейно с полезной площадью поперечного сечения и диаметром трубки. Как и на макроскопическом уровне, пространство между слоями нанотрубки не делает вклад в распределение нагрузки. Таким образом, полезная площадь поперечного сечения нанотрубки меньше, чем можно предполагать.

Для описания взаимодействия между атомами углерода и изучения растяжения МУНТ Лау с соавторами использовали потенциал Терсоффа–Бреннера [10]. Они обнаружили, что при скручивании и растяжении нанотрубок всю нагрузку принимает на себя внешний слой нанотрубки. Поскольку между слоями осуществляются лишь слабые ван-дер-ваальсовы взаимодействия, движения внешнего слоя не могут эффективно передаваться на внутренние слои. В конечном итоге, нагрузка приводит к разрыву внешнего слоя, и это напоминает ситуацию с разрывом нанотрубки, описанную в работе [6].

Лау с коллегами также заметили, что значение модуля Юнга для нанотрубок в значительной степени определяется их хиральностью [12]. Трубки с конформацией «зигзаг» обычно имеют меньший диаметр, чем трубки с конформацией «кресло». Радиус первого (внутреннего) слоя трубки можно рассчитать, пользуясь моделью для скручивания листа графена:

$$\rho_0 = \frac{\sqrt{m^2 + n^2 + mn}}{\pi} \sqrt{3a_0}, \quad (1.2)$$

где ρ_0 — радиус в нерелаксированном состоянии, m и n — параметры ОУНТ и a_0 — длина связи углерод–углерод (1,42 Å).

В последние годы стало возможным с достаточно высокой точностью предсказывать свойства наноматериалов на атомном уровне с помощью метода МД-моделирования. В некоторых ранних работах этим методом с использованием эмпирических потенциалов было рассчитано несколько значений модуля Юнга для нанотрубок; оценки примерно в четыре раза превысили соответствующие показатели для алмаза. Однако эти расчеты были сделаны для ОУНТ с радиусом несколько ангстрем. Для определения механических свойств нанотрубок необходимо знать особенности их атомного строения. Принято выделять три конформации структуры нанотрубок: «зигзаг» ($n, 0$), «кресло» (n, n) и хиральную (n, m), где $n \neq m$. В работе [12] представлен подробный обзор структур углеродных нанотрубок.

Для изучения механических свойств материалов на атомном уровне методом МД-моделирования требуется уметь рассчитывать взаимодействия между соседними атомами, при этом обычно пользуются двумя подходами, основанными на законах квантовой и молекулярной механики. В обоих случаях задача состоит в учете энергетических эффектов системы, связанных с изменениями положений атомов в соответствии со вторым законом Ньютона, $F = ma$. В углеродных нанотрубках взаимодействие атомов описывается силовыми потенциалами, связанными со

связывающими и несвязывающими взаимодействиями. К несвязывающим взаимодействиям относятся ван-дер-ваальсовы взаимодействия (которые могут выражаться как в притяжении, так и в отталкивании атомов — в зависимости от расстояния между ними), а также электростатические взаимодействия. Для моделирования силы Ван-дер-Ваальса (F_{VDW}) часто применяют потенциал Леннарда–Джонса [11], который изначально был выведен для инертного газа. В общем виде выражение для этого потенциала записывается следующим образом:

$$\Phi(r) = \frac{\lambda_n}{r^n} - \frac{\lambda_m}{r^m}. \quad (1.3)$$

В том случае, когда ван-дер-ваальсовы взаимодействия являются результатом диполь-дипольного взаимодействия, часть уравнения, описывающая силу притяжения, соответствует $m = 6$. Чаще всего этот потенциал имеет так называемую форму 6-12:

$$\Phi(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (1.4)$$

Минимум функции (r) можно найти, приравняв к нулю первую производную (r) от r . Силу ван-дер-ваальсовых взаимодействий между двумя атомами углерода можно оценить с помощью следующего уравнения:

$$F_{\text{VDW}} = \frac{24\varepsilon}{r} \left[2 \left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right]. \quad (1.5)$$

Параметры σ и ε можно рассчитать, основываясь на таких экспериментальных данных, как равновесная длина связи (параметры решетки в равновесном состоянии), равновесная энергия связи (энергия межатомной связи) и модуль упругости в равновесном состоянии. Энергия связи (E_{bond}) складывается из четырех составляющих: растяжение связи (U_ρ), изменение величины угла (U_θ), инверсия (U_ω) и вращение (U_τ) [12], что можно записать следующим образом:

$$E_{\text{bond}} = U_\rho + U_\theta + U_\omega + U_\tau. \quad (1.6)$$

Схематично вклад каждой составляющей и структура соответствующей связи в ячейке графена показаны на рисунке 1.3. Чаще всего для расчетов пользуются следующими уравнениями:

$$U_\rho = \frac{1}{2} \sum_i K_i (dR_i)^\xi, \quad (1.7a)$$

$$U_\theta = \frac{1}{2} \sum_i C_i (d\theta_i)^\xi, \quad (1.7б)$$

$$U_\omega = \frac{1}{2} \sum_k B_k (d\omega_k)^\xi, \quad (1.7в)$$

$$U_\tau = \frac{1}{2} \sum_i A_i [1 + \cos(n_i \tau_i - \varphi_i)], \quad (1.7г)$$

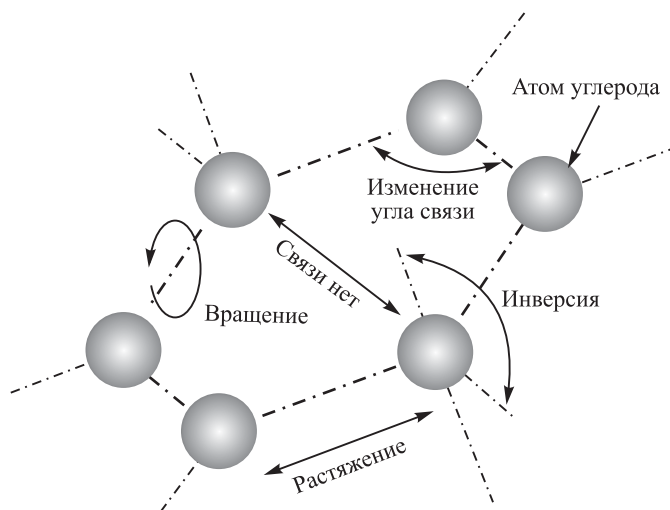


Рис. 1.3. Структура связей в ячейке графена

где dR_i — удлинение связи i ; K_i — постоянная, связанная с удлинением связи i ; $d\theta_j$ и $d\omega_k$ описывают изменения величины угла j и угол инверсии k соответственно; C_j и B_k — константы, описывающие изменение величины угла и инверсию; A_i — предельное значение вращения связи i ; n_i — множитель, определяющий число минимумов энергии при повороте связи на 2π [13].

Для определения модуля упругости ОУНТ, подвергающейся однонаправленному растяжению, полезно иметь в виду, что при небольшой нагрузке вклад энергии вращения, инверсии, ван-дер-ваальсового и электростатического взаимодействия сравнительно малы по сравнению с вкладом растяжения связи и изменения угла связи. Таким образом, общее выражение для энергии ОУНТ можно упростить до следующего вида:

$$E_{\text{общ}} = \frac{1}{2} \sum_i K_i (dR_i)^2 + \frac{1}{2} \sum_j C_j (d\theta_j)^2. \quad (1.8)$$

Константы K_i и C_j можно определить из законов квантовой механики *ab initio*. Найденные средние значения модуля упругости и коэффициента Пуассона составили 1,347 ТПа и 0,262 соответственно [14]. Подобные расчеты для определения механических сил, возникающих между атомами углерода в нанотрубках с различной хиральной организацией атомов, можно производить, оценивая либо силу, либо энергию взаимодействия.

Для изучения свойств нанотрубок Лу применил метод молекулярно-динамического моделирования с использованием эмпирических потенциалов [15]. Структуру нанотрубок определяли с помощью конформационного анализа графена на цилиндрической поверхности. Радиус

нанотрубок оценивали по уравнению (1.2). Средние значения модуля упругости МУНТ и ОУНТ составили ~ 1 ТПа. Все нанотрубки с радиусом более 1 нм имели одинаковые упругие свойства. Для оценки механических свойств ОУНТ Жоу с соавторами использовали кластерную модель в рамках приближения локальной плоскости [16]. Полученные значения модуля упругости, предела прочности и коэффициента Пуассона составили 0,764 ТПа, 6,248 ГПа и 0,32 соответственно [17]. Энергия связывания у нанотрубок ниже, чем у графита, что связано с искривлением поверхности. Лиер с соавторами рассчитали модуль упругости ОУНТ в конформациях «зигзаг» и «кресло» с помощью мультипликативного интегрального подхода *ab initio*, основываясь на энергии вытягивания нанотрубок при простом растяжении (не ограниченном в латеральном или другом направлении) [17]. Согласно их расчетам, модули упругости ОУНТ и МУНТ выше, чем у листа графена. МД-моделирование показывает, что нанотрубки в конформации «зигзаг» при разрушении оказываются более хрупкими, чем нанотрубки в конформации «кресло» [18]. Образование локального дефекта Стоуна–Уэлса (5-7-7-5) в деформированной трубке с конформацией «кресло» вызывает вязкую деформацию.

1.2.3. Метод конечных элементов

В последние годы возникла необходимость развития более быстрых методов анализа механических свойств наноматериалов. Классическая теория упругих оболочек стала восприниматься как слишком простая и недостаточно точная, поскольку в ней принимаются далекие от реальности граничные условия. Для расчета механических параметров нанотрубок стал применяться метод конечных элементов (МКЭ) в сочетании с использованием молекулярно-динамической или континуальной модели. Одегард с соавторами предложили континуальную модель трубки для определения эффективной геометрии и жесткости при изгибе графеновой структуры [19]. Сначала для определения взаимодействия между отдельными атомами углерода они использовали принципы молекулярной механики [см. уравнения (1.6) и (1.7)]. В данном случае поле молекулярных взаимодействий анализировали с помощью шарнирной модели (в которой каждый стержень отражает взаимодействие между двумя атомами, как показано на рисунке 1.4). Такая шарнирная модель достаточно точно отражает перемещение атомов в нанотрубках (аналогично нелинейным моделям структур). Поскольку нанотрубки подвергали только однонаправленному растяжению [20], анализировали лишь энергию растяжения связи и изменения угла связи [см. уравнение (1.8)]. Методом конечных элементов на основании энергии растяжения всей системы оценивали эффективную толщину слоя нанотрубки. Оказалось, что эффективная толщина нанотрубок (0,69 и 0,57 Å) существенно превышает межслойное расстояние в графите, которое по оценкам составляет около 0,34 Å.

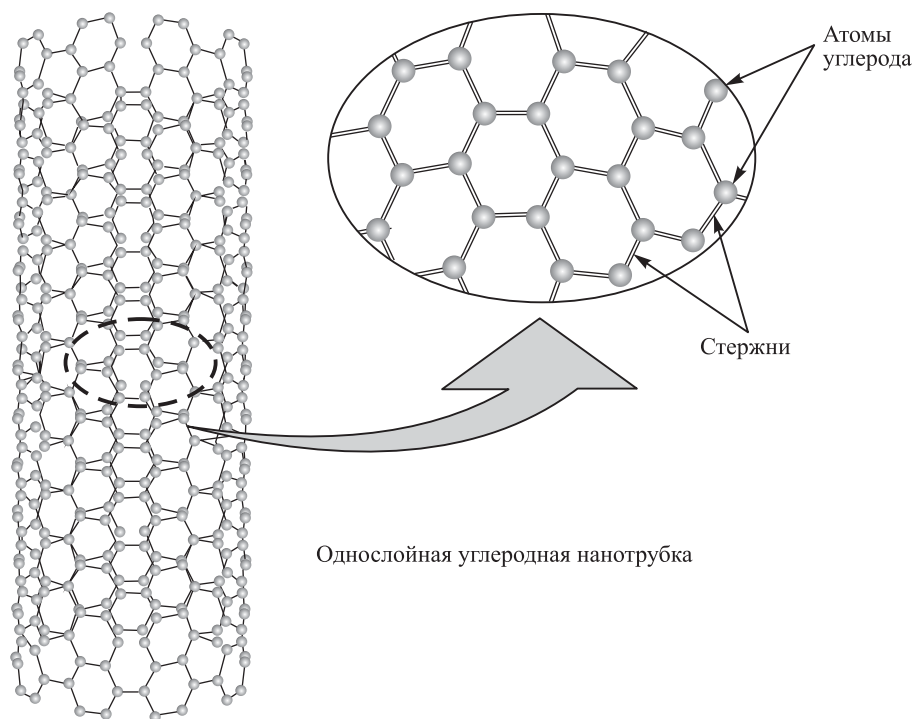


Рис. 1.4. Шарнирная модель углеродной нанотрубки

Ли и Чу оценивали вклад ван-дер-ваальсовых взаимодействий между отдельными атомами углерода в нанотрубке с помощью шарнирной модели и МКЭ [20, 21]. Связь между структурно-механическими параметрами EA , EI и GJ и молекулярно-механическими параметрами K_r , C_0 и A_c [см. уравнения (1.7а), (1.7б) и (1.7г)] для каждого стержня можно записать следующим образом:

$$\frac{EA}{L} = K_r, \quad (1.9a)$$

$$\frac{EI}{L} = C_0, \quad (1.9б)$$

$$\frac{GJ}{L} = A_c. \quad (1.9в)$$

На рисунке 1.5 представлена зависимость ван-дер-ваальсовых сил от расстояния между двумя атомами углерода. К концу нанотрубки всегда прилагалось однонаправленное воздействие; влияние запаянного конца трубки не учитывалось. Выяснилось, что модуль Юнга нанотрубок возрастает по мере увеличения диаметра нанотрубок. Значения

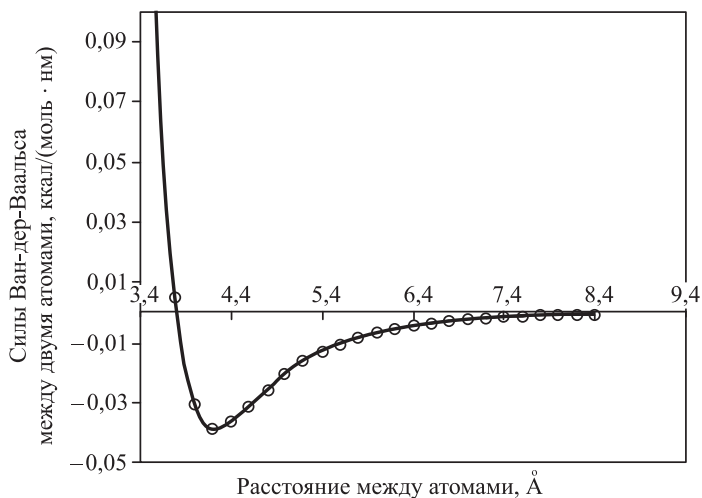


Рис. 1.5. Сила ван-дер-ваальсова взаимодействия как функция расстояния между двумя атомами углерода

модуля Юнга и модуля сдвига МУНТ находились в пределах $1,05 \pm 0,05$ и $0,4 \pm 0,05$ ТПа соответственно. В случае ОУНТ значения модуля Юнга нанотрубок с диаметром свыше 1 нм практически не изменялись. В среднем значения модуля Юнга нанотрубок с конформацией «зигзаг» были несколько выше, чем для нанотрубок с конформацией «кресло». Кроме того, значения модуля Юнга МУНТ обычно были выше для МУНТ, чем для ОУНТ (примерно на 7%).

1.3. Производство полимерных композитов на основе нанотрубок

Для получения заданных свойств полимерных композитов на основе нанотрубок необходимо очень тщательно контролировать технологический процесс, так как это позволяет достигать хорошего уровня дисперсии и обеспечивает связывание нанотрубки с окружающей матрицей, что, в свою очередь, способствует эффективной передаче нагрузки с матрицы на нанотрубку. На свойства конечного продукта большое влияние оказывают такие факторы, как выбор растворителя (необходимо также точно выдерживать время испарения растворителя до начала добавления отвердителя), время озвучивания, скорость перемешивания, вязкость материала, температура смешивания и затвердевания. В то же время прочность композитов в значительной мере определяется распределением нанотрубок. До настоящего времени проблема регулирования распределения нанотрубок в композите окончательно не решена, поскольку такие маленькие частицы плохо поддаются контролю с помо-

щью традиционных методов, предназначенных для дисперсий микро- и макрочастиц.

Одним из наиболее распространенных методов диспергирования нанотрубок в полимерных материалах является обработка ультразвуком. Парк с соавторами впервые продемонстрировали возможность полимеризации *in situ* для получения однородной дисперсии пучков ОУНТ в полимерной матрице [22]. Разбавленный раствор ОУНТ (обычно около 0,05 масс. % нанотрубок в диметилформамиде (ДМФ)) подвергают воздействию ультразвука (40 кГц) на протяжении 1,5 ч, а потом смешивают с отвердителем. Было показано, что длительное время озвучивания может приводить к спутыванию нанотрубок и образованию пучков, что может ухудшать прочность композиционных материалов. Спутывание длинных нанотрубок, кроме того, может приводить к ухудшению пропитки композита, если не поддерживать вязкость композиции на сравнительно низком уровне. Когда время озвучивания превышает 4 ч, большинство графеновых слоев в нанотрубках разрушается, при этом возможно возникновение сочленений [23]. Это может быть связано с слишком интенсивным движением нанотрубок, в результате которого они сталкиваются друг с другом. Кроме того, под действием ультразвука может происходить локальный перегрев, способствующий разрыву углерод-углеродных связей в нанотрубках.

Лу с соавторами обнаружили, что свойства химического растворителя, использующегося для введения нанотрубок в эпоксидные смолы, могут сильно влиять на монолитность получающихся композитов [24]. Они применяли ацетон, этиловый спирт и ДМФ; температура кипения этих соединений составляет 56, 78 и 130 °С соответственно. Из-за высокой температуры кипения ДМФ при комнатной температуре плохо испаряется, остается внутри композита и в результате влияет на скорость химической реакции между матрицей и отвердителем. В конечном итоге это приводит к ухудшению механических и химических свойств композиционного материала. В таблице 1.1 представлены значения твердости по Виккерсу, полученные для различных композитов эпоксидных смол и нанотрубок при использовании разных растворителей. Очевидно, что механические свойства композитов напрямую связаны с температурой кипения растворителя.

Таблица 1.1

**Значения твердости по Виккерсу, полученные при нагрузке 100 г
и времени выдержки 15 с**

Композит	Растворитель	Твердость по Виккерсу
УНТ/эпоксидная смола	Ацетон	$18,0 \pm 0,11$
УНТ/эпоксидная смола	Этанол	$14,4 \pm 0,08$
УНТ/эпоксидная смола	ДМФ	$7,7 \pm 0,10$
Эпоксидная смола	—	$17,8 \pm 0,06$

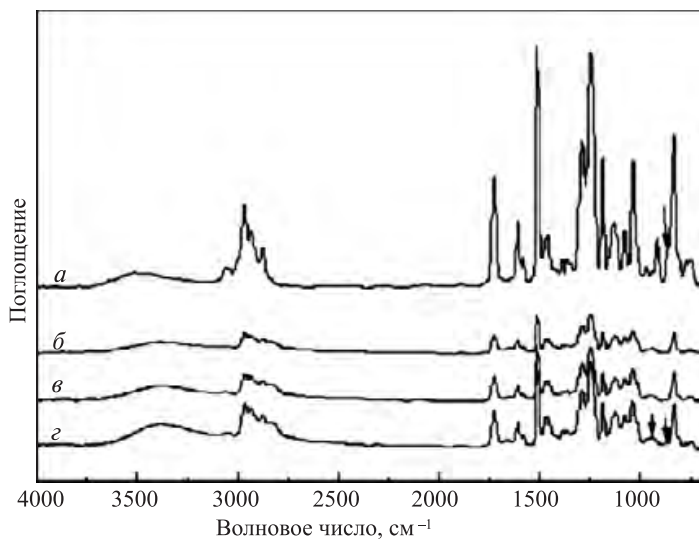


Рис. 1.6. Инфракрасные спектры с преобразованием Фурье для нескольких образцов

На рисунке 1.6 представлены результаты ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье для различных композитов. Спектры *б*, *в* и *г* получены при использовании для диспергирования нанотрубок ацетона, этанола и ДМФ соответственно. Спектр *а* соответствует чистой эпоксидной смоле. Наиболее важной особенностью спектров *б*, *в* и *г* является появление новой полосы поглощения при $\sim 1650 \text{ см}^{-1}$. Учитывая, что в молекуле эпоксидной смолы реакционно способными группами являются эпоксидная и гидроксильная группы, эта полоса может быть приписана аминогруппе, образующейся в результате межмолекулярного нуклеофильного замещения гидроксила в амидной группе, что можно использовать для оценки количества продукта при сшивании. На самом деле, в спектрах *б*, *в* и *г* эта новая полоса расположена при разных длинах волн: 1645 , 1649 и 1664 см^{-1} соответственно. Следовательно, при использовании разных растворителей композиты имеют различные функциональные параметры, что может объяснять упомянутые выше различия в механических свойствах. Бланше с соавторами диспергировали нанотрубки в полианилине под воздействием ультразвука [25]. Сначала нанотрубки подвергали ультразвуку в ксилене, а затем эту дисперсию обрабатывали ультразвуком в растворе динонилнафталинсульфоновой кислоты и полианилина. Все нанотрубки хорошо диспергировались в полианилине и электропроводность материала заметно повышалась. Танг с соавторами предложили использовать предварительное сплавление компонентов для получения композитов нанотрубок и полиэтилена высокой плотности (ПЭВП) [26]. Сначала нанотрубки и ПЭВП сплавливали друг с другом, а затем уже загружали в двухшнековый экструдер.

В данной работе было трудно контролировать равномерность распределения нанотрубок в полиэтилене, поскольку после спекания частиц нанотрубки могли забивать головку экструдера или спутываться в экструдере, образуя пучки. Хотя эксперименты по изучению композитов нанотрубок и полимеров проводятся уже более десяти лет, пока не найдено оптимального способа получения системы с равномерно распределенными нанотрубками. Основными приемами достижения однородности распределения нанотрубок в полимерном композите являются обработка ультразвуком в водяной бане, механическое перемешивание и контроль давления и влажности смеси, позволяющий избежать образования пустот. Однако, поскольку многие исследователи не контролируют вязкость системы и время затвердевания, в результате действия гравитационных сил в среде с низкой вязкостью может происходить осаждение и перепутывание трубок.

1.4. Свойства межфазной поверхности композитов на основе нанотрубок

1.4.1. Экспериментальные методы анализа

Известно, что высокая механическая прочность полимерных композитов на основе нанотрубок достигается только в том случае, когда все нанотрубки вытянуты параллельно направлению прилагаемой нагрузки, аналогично ситуации с композитами, армированными стеклянными или угольными волокнами. Любая внешняя нагрузка, прилагаемая к композиционному материалу, должна эффективно передаваться из матрицы на нанотрубки за счет взаимодействия между ними.

Джин с соавторами [27] и Вуд с соавторами [28] изучали возможность контроля упорядочения нанотрубок в полимерной матрице для производства сверхпрочных нанокомпозитов. Такие материалы можно производить в лабораторных условиях и трудно реализовать на уровне масштабного производства. Регуляция выравнивания нанотрубок в определенном направлении до сих пор остается серьезной проблемой, ведь упорядочение влияет не только на основные параметры наноматериалов, но и на их электропроводность, термостабильность и сенсорные свойства.

Механизм передачи нагрузки в различных композитах нанотрубок и полимеров в последние годы изучали на экспериментальном и теоретическом уровнях, а также с помощью моделей. Вагнер с соавторами [29] и Киан с соавторами [30] сообщали, что прочность при сдвиге по поверхности раздела нанотрубки/матрица достигает 43,3 МПа. Однако в некоторых экспериментах в композитах нанотрубок и полимерных материалов была обнаружена плохая адгезия [31]. На поверхности разлома разрушенных образцов обнаружены неравномерные скопления нанотрубок. Кроме того, слабые силы связывания между слоями многостенных нанотрубок способствуют разрушению, начинающемуся непосредственно с внешнего слоя. Экспериментальные исследования, про-

веденные Купером с соавторами, показали, что прочность при сдвиге по поверхности раздела нанотрубки/эпоксидная матрица зависит от диаметра и длины трубок и количества слоев [32]. Был получен образец на основе эпоксидной матрицы, сегменты которого соединяла нанотрубка (мостик). Этот образец разъединяли с помощью острия сканирующего микроскопа: измеряемое сопротивление сдвигу варьировалось от 38 до 376 МПа, максимальные значения были получены для канатиков из ОУНТ. С помощью атомно-силовой микроскопии было отмечено отделение нанотрубок от твердой полиэтиленовой матрицы, а среднее значение напряжения, необходимого для удаления ОУНТ из матрицы, составляло примерно 47 МПа [33]. Условия данного эксперимента близки к реальным, поскольку все нанотрубки были физически связаны с матрицей, и был проведен стандартный тест на испытание выдергиванием нанотрубок. Однако, как было сказано в предыдущем разделе, механические свойства нанотрубок разных типов могут зависеть от их адгезионной прочности с матрицей, и чтобы получить более глубокое понимание межфазных взаимодействий между нанотрубками и матрицей, требуется усовершенствовать условия испытания выдергиванием для нанотрубок различного типа и формы.

1.4.2. Теоретические исследования и молекулярно-динамическое моделирование

МД-моделирование — удобный метод для предсказания взаимодействий между разными слоями нанотрубок, между нанотрубками и окружающими атомами и молекулами других структур. Лиао и Ли имитировали выдергивание нанотрубок из полистирольной матрицы с помощью компьютерной программы HyperChem [34]. Силу взаимодействия между молекулами полистирола и листами графена изучали с помощью молекулярно-механической модели в силовом поле MM+. Были созданы статистические последовательности молекул полистирола $((-\text{CH}_2\text{CHC}_6\text{H}_5-)_n)$ с $n = 2, 4, 10, 20, 40$ и 80 , которые располагались вблизи поверхностного слоя нанотрубок (рис. 1.7). Затем моделировали выдергивание нанотрубок, чтобы измерить силу их взаимодействия с матрицей. В данном исследовании напряжение сдвига между нанотрубками и полимером составило около 160 МПа. Лорди и Йао рассчитали энергию связывания и трение скольжения между нанотрубками и полимерной матрицей, используя методы молекулярной механики в силовом поле [35]. Они обнаружили, что контактное трение между полимером и поверхностью нанотрубок было значительно выше, чем между слоями нанотрубок в МУНТ. Ключевую роль в формировании прочного взаимодействия между полимером и нанотрубками играет морфология полимера, особенно его способность образовывать спирали большого диаметра, окружающие отдельные нанотрубки. С помощью МД-моделирования Франкленд с соавторами изучали влияние химических перекрестных сшивок на межфазное взаимодействие между ОУНТ и полимерной матрицей [36]. Модель была разработана для одностен-

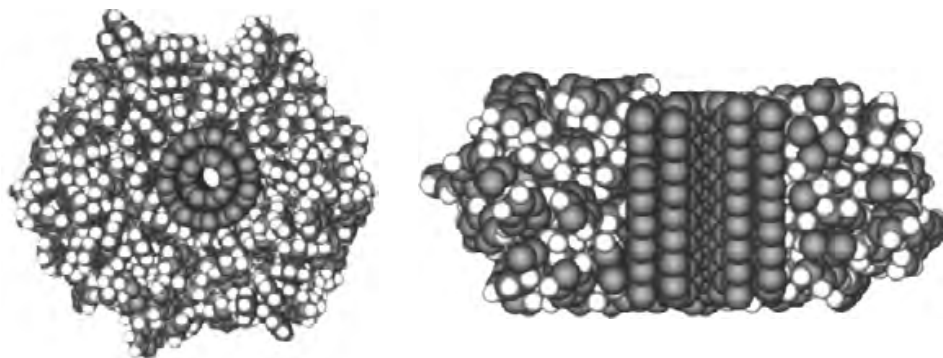


Рис. 1.7. Молекулярная модель двухслойной углеродной нанотрубки, включенной в полистирольную матрицу

ных нанотрубок (10,10) в конформации «кресло», включенных либо в кристаллическую, либо в аморфную матрицу. Несвязывающие взаимодействия в полиэтиленовой матрице и между матрицей и нанотрубками описывали с помощью потенциала Леннарда-Джонса (потенциал 6-12). Оказалось, что даже сравнительно небольшая плотность перекрестных связей оказывает существенное влияние на свойства раздела фаз полимер/нанотрубки. Рен с соавторами обнаружили, что энергия выдергивания нанотрубок зависит от тепловых условий [37]. Однако в их модельных экспериментах было принято много упрощений, и химические взаимодействия между матрицей и трубками, как правило, не учитывались. Принимались во внимание лишь несвязывающие взаимодействия, а также электростатические и ван-дер-ваальсовы силы.

На первых этапах изучения нанотрубок было получено множество разнообразных данных относительно параметров взаимодействия на границе раздела фаз матрица/нанотрубки. Так, Ксу с соавторами сообщали, что при расколе образцов эпоксидной матрицы с включениями МУНТ возникает значительное напряжение сдвига [38]. Вагнер первым предложил для измерения сил сдвига в системах с нанотрубками использовать модель Келли–Тайсона, которую раньше широко применяли для изучения перераспределения напряжения между матрицей и волокнами в композитах с включениями микрометрового размера [39]. Поскольку было показано, что силы связывания между внутренними слоями нанотрубок очень малы, и часто имеет место разрушение в результате сдвига, Вагнер рассматривал систему, содержащую исключительно одностенные трубки. В его исследовании предполагалось, что нагрузка, прилагаемая к композиту из нанотрубок и полимера, полностью передается на нанотрубки посредством механизма сдвига на границе фаз на молекулярном уровне, т. е. длина нанотрубок (l) больше критической длины (l_c). Для изучения механизма передачи напряжения в композите была использована модель одностенной цилиндриче-

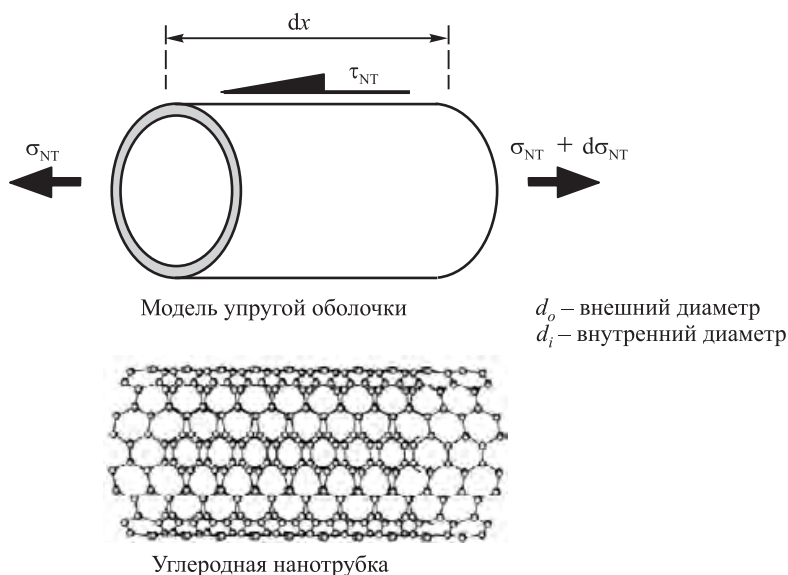


Рис. 1.8. Анализ передачи нагрузки с помощью модели Келли–Тайсона

ской нанотрубки (рис. 1.8), в которой для описания баланса сил в композите применяется следующее уравнение:

$$\tau_{NT} d_i dx = (\sigma_{NT} + d\sigma_{NT}) \left(\frac{d_o^2 - d_i^2}{4} \right) - \sigma_{NT} \left(\frac{d_o^2 - d_i^2}{4} \right), \quad (1.10)$$

где τ_{NT} — сила сдвига на границе фаз между нанотрубкой и матрицей, σ_{NT} — предел прочности при растяжении сегмента нанотрубки длиной dx , а d_o и d_i — внешний и внутренний диаметры нанотрубки соответственно. После интегрирования уравнения (1.10) и учета критической длины в типичном композите с короткими волокнами силу сдвига на границе фаз можно выразить следующим образом:

$$\tau_{NT} = \sigma_{NT} \left[\frac{1}{2} \left(\frac{l_c}{d_o} \right)^{-1} \left(1 - \frac{d_i^2}{d_o^2} \right) \right], \quad (1.11)$$

где l_c/d_o — критическое соотношение длины трубки к ее диаметру, а d_i/d_o — соотношение внутреннего и внешнего диаметров. Обычно прилагаемая внешняя нагрузка составляет 50 ГПа; межфазное напряжение было рассчитано для критических длин, составляющих 100, 200 и 500 нм. Было сделано заключение, что на силу сдвига на границе фаз влияют критическая длина и внешний диаметр нанотрубок. С увеличением диаметра нанотрубок происходило увеличение сопротивления межповерхностного сдвига.

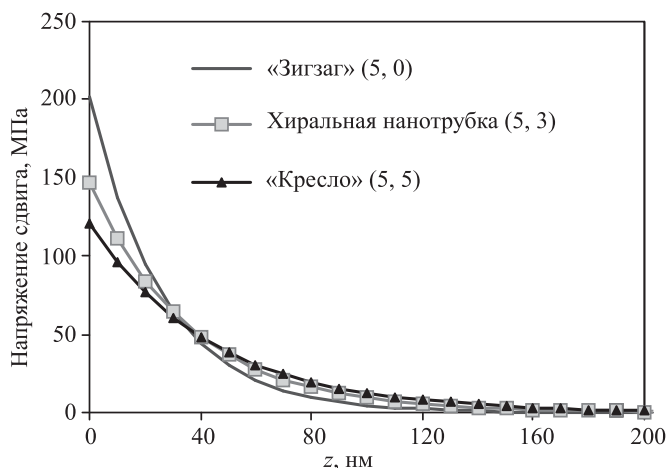


Рис. 1.9. Напряжение сдвига на границе раздела для различных нанотрубок

Лау осуществил аналитическое исследование адгезионной прочности в композитах нанотрубки/полимер, используя хорошо разработанную модель приближения локальной плотности, а также классическую теорию упругой оболочки и традиционную модель для изучения выдергивания волокон [11]. В этом исследовании учитывались такие важные параметры, как толщина стенки нанотрубок, модуль Юнга, объемная доля и хиральность нанотрубок. Было показано, что снижение напряжения сдвига происходит при увеличении размера нанотрубок. Увеличение количества слоев нанотрубок снижает значение модуля Юнга, повышает полезную площадь поперечного сечения и общую площадь контакта между фазами, а также допустимое усилие выдергивания для системы нанотрубки/полимер. На рисунке 1.9 представлен график зависимости напряжения сдвига на границе раздела фаз для ОУНТ с различными хиральными свойствами. Видно, что максимальное напряжение сдвига имеет место в случае нанотрубок в конформации «зигзаг» (5, 0).

1.5. Заключение

В данной главе представлен обзор прочностных свойств композитов на основе нанотрубок, процессов их получения, рассмотрены также свойства границ раздела в композитах нанотрубок и полимерной матрицы. В последние годы было проведено много исследований, однако остается еще множество проблем, связанных с измерением механических свойств нанотрубок. По-прежнему наблюдается дефицит хорошего оборудования, позволяющего проводить измерения в нанометровом диапазоне изменения величин. Молекулярно-динамическое моделирование и теоретический анализ, главным образом, основыва-

ются на частных допущениях, которые не всегда отражают реальную ситуацию. Кроме того, важным параметром, оказывающим влияние на свойства композитов, является однородность распределения нанотрубок в матрице. Но как достигать равномерности распределения нанотрубок в матрице в технологиях крупномасштабного производства композитов, пока не понятно.

Тем не менее спрос на легкие, но прочные нанокомпозиты продолжает возрастать. Композиты, армированные стеклянными и углеродными волокнами, используются в производстве самолетов Airbus-380 и Streamliner Boeing-787, так что в получении армированных полимерных материалов и композитов заинтересованы многие отрасли промышленности. Однако прежде чем начать внедрение нанокомпозитов в практику, следует получить исчерпывающие ответы на следующие вопросы. Существуют ли химические связи между нанотрубками и матрицей? Сохраняют ли нанотрубки свои уникальные механические, электрические и тепловые свойства при образовании химических связей с матрицей?

Литература

1. Snow E.S., Campbell P.M., and Novak J.P. 2002. Single-Wall Carbon Nanotube Atomic Force Microscope Probes *Appl. Phys. Lett.* 80(11) 2002–2004.
2. Kiernan G., Barron V., Blond D., Drury A., Coleman J., Murphy R., Cadek M., and Blau W. 2003. Characterization of Nanotube-Based Artificial Muscles Materials *Proc. SPIE* 4876, 775–781.
3. Gao Y. and Bando Y. 2002. Carbon Nanothermometer Containing Gallium *Nature* 415–599.
4. Liu C., Yang L., Tong H.T., Cong H.T., and Cheng H.M. 2002. Volumetric Hydrogen Storage in Single-Walled Carbon Nanotubes *Appl. Phys. Lett.* 80(13) 2389–2391.
5. Yu M.F., Files B.S., Arepalli S., and Ruoff R.S. 2000. Tensile Loading of Ropes of Single-Wall Carbon Nanotubes and Their Mechanical Properties *Phys. Rev. Lett.* 84(24) 5552–5555.
6. Demczyk B.G., Wang Y.M., Cumings J., Hetman M., Han W., Zettl A., and Ritchie R.O. 2002. Direct Mechanical Measurement of the Tensile Strength and Elastic Modulus of Multiwalled Carbon Nanotubes *Mater. Sci. Eng. A* 334, 173–178.
7. Cumings J. and Zettl A. 2000. Low-Friction Nanoscale Linear Bearing Realized from Multiwall Carbon Nanotubes *Science* 289, 602–604.
8. Qi H.J., Teo K.B.K., Lau K.K.S., Boyce M.C., Milne W.I., Robertson J., and Gleason K.K. 2003. Determination of Mechanical Properties of Carbon Nanotubes and Vertically Aligned Carbon Nanotube Forests Using Nanoindentation *J. Mech. Phys. Solids* 51, 2213–2237.

9. Tu Z.C. and Ou-Yang Z.C. 2002. Single-Walled and Multiwalled Carbon Nanotubes Viewed as Elastic Tubes with the Effective Young's Moduli Dependent on Layer Number *Phys. Rev. B* 65, 233–407.
10. Lau K.T., Gu C., Gao G.H., Ling H.Y., and Reid S.R. 2004. Stretching Process of Single- and Multiwalled Carbon Nanotubes for Nanocomposite Applications *Carbon* 42, 423–460.
11. Lau K.T. 2003. Interfacial Bonding Characteristics of Nanotube/Polymer Composites *Chem. Phys. Lett.* 370, 399–405.
12. Lau K.T. and Hui D. 2002. The Revolutionary Creation of New Advanced Materials: Carbon Nanotube Composites *Compos. Pt. B: Eng.* 33, 263–277.
13. Lennard-Jones J.E. 1924. The Determination of Molecular Fields: From the Variation of the Viscosity of a Gas with Temperature *Proc. R. Soc. A* 106, 441.
14. Chang T.C. and Gao H.J. 2003. Size-dependent Elastic Properties of a Single-Walled Carbon Nanotube via a Molecular Mechanics Model *J. Mech. Phys. Solid* 51, 1059–1074.
15. Lu J.P. 1997 Elastic Properties of Single and Multi-Layered Nanotubes *J. Phys. Chem. Solids* 58(11) 1649–1652.
16. Zhou G., Duan W.H., and Gu B.L. 2000. First-Principles Study on Morphology and Mechanical Properties of Single-Walled Carbon Nanotubes and Graphene *Chem. Phys. Lett.* 326, 181–185.
17. Lier G.V., Alsenoy C.V., Doren VV., and Geerlings P. 1998. Ab Initio Study of the Elastic Properties of Single-Walled Nanotubes *Phys. Rev. B* 58(20) 14013–14019.
18. Nardelli M.B., Yakobson B.I., and Bernholc J. 1998. Brittle and Ductile Behaviour in Carbon Nanotubes. *Phys. Rev. Lett.* 81(21) 4656–4659.
19. Odegard G.M., Gates T.S., Nicholson L.M., and Wise K.E. 2002. Equivalent-continuum Modelling of Nano-Structured Materials *Comp. Sci. Tech.* 62, 1869–1880.
20. Li C.Y. and Chou T.W. 2003. A Structural Mechanics Approach for the Analysis of Carbon Nanotubes *Inter. J. Solid & Struct.* 40, 2487–2499.
21. Li C.Y. and Chou T.W. 2003. Elastic Moduli of Multi-Walled Carbon Nanotubes and the Effect of Van der Waals Forces *Comp. Sci. Tech.* 63, 1517–1524.
22. Park C., Ounaies Z., Watson K.A., Crooks R.E., Smith Jr. J., Lowther S.E., Connell J.W., Siochi E.J., Harrison J.S., and Clair T.L. 2002. Dispersion of Single-Wall Carbon Nanotubes by *in situ* Polymerization under Sonication *Chem. Phys. Lett.* 364, 303–308.
23. Mukhopadhyay K., Dwivedi C.D., and Mathur G.N. 2002. Conversion of Carbon Nanotubes to Carbon Nanofibers by Sonication *Carbon* 40, 1369–1383.
24. Lu M., Lau K.T., Ling H.Y., Zhou L.M., and Li H.L. 2004. Effect of Solvents Selection for Carbon Nanotubes Dispersion on the Mechanical Properties of Epoxy-Based Nanocomposites *Comp. Sci Tech.* Accepted.

25. Blanchet G.B., Fincher C.R., and Gao F. 2003. Polyaniline Nanotube Composites: A High-Resolution Printable Conductor *Appl. Phys. Lett.* 82(8) 1290–1292.
26. Tang W.Z., Santare M.H., and Advani S.G. 2003. Melt Processing and Mechanical Property Characterization of Multiwalled Carbon Nanotube/High Density Polyethylene (MWNT/HDPE) Composite Films *Carbon* 41, 2779–2785.
27. Jin L., Bower C., and Zhou O. 1998. Alignment of Carbon Nanotubes in a Polymer Matrix by Mechanical Stretching *Appl. Phys. Lett.* 73(9) 1197–1199.
28. Wood J.R., Zhao Q., and Wagner H.D. 2001. Orientation of Carbon Nanotubes in Polymers and Its Detection by Raman Spectroscopy *Compos. Pt. A* 32, 391–399.
29. Wagner H.D., Lourie O., Feldman Y., and Tenne R. 1998. Stress-Induced Fragmentation of Multiwall Carbon Nanotubes in a Polymer Matrix *Appl. Phys. Lett.* 72(2) 188–190.
30. Qian D., Dickey E.C., Andrews R., and Rantell T. 2000. Load Transfer and Deformation Mechanisms in Carbon Nanotube-Polystyrene Composites *Appl. Phys. Lett.* 76(20) 2868–2870.
31. Lau K.T. and Hui D. 2002. Effectiveness of Using Carbon Nanotubes as Nano-Reinforcement for Advanced Composite Structures *Carbon* 40, 1597–1617.
32. Cooper C.A., Cohen S.R., Barber A.H., and Wagner H.D. 2002. Detachment of Nanotubes from a Polymer Matrix *Appl. Phys. Lett.* 81(20) 3873–3875.
33. Barber A.H., Cohen S.R., and Wagner H.D. 2003. Measurement of Carbon Nanotube-Polymer Interfacial Strength *Appl. Phys. Lett.* 82(23) 4140–4142.
34. Liao K. and Li S. 2001. Interfacial Characteristics of a Carbon Nanotube-polystyrene Composite System *Appl. Phys. Lett.* 79(25) 4225–4227.
35. Lordi V. and Yao N. 2000. Molecular Mechanics of Binding in Carbon-Nanotube-Polymer Composites *J. Mater. Res.* 15(12) 2770–2779.
36. Frankland S.J.V., Caglar A., Brenner D.W., and Griebel M. 2002. Molecular Simulation of the Influence of Chemical Cross-Links on the Shear Strength of Carbon Nanotube-Polymer Interfaces *J. Phys. Chem. B* 106, 3046–3048.
37. Ren Y., Fu Y.Q., Li F., Cheng H.M., and Liao K. 2004. Fatigue Failure Mechanisms of Single-Walled Carbon Nanotube Ropes Embedded in Epoxy *Appl. Phys. Lett.* 84(15) 2811–2813.
38. Xu X.J., Thwe M.M., Shearwood C., and Liao K. 2002. Mechanical Properties and Interfacial Characteristics of Carbon-Nanotube-Reinforced Epoxy Thin Film *Appl. Phys. Lett.* 81, 2833.
39. Wagner H.D. 2003. Nanotubes-Polymer Adhesion: A Mechanic's Approach *Chem. Phys. Lett.* 361, 57.

ПЕРЕРАБОТКА, РЕОЛОГИЧЕСКИЕ И ДРУГИЕ СВОЙСТВА ПОЛИМЕРНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОВОЛОКОН

Халид Лафди

*Исследовательский институт
Университета Дейтона, Огайо, США*

2.1. Введение

Развитие области полимерных композитов обусловлено их неоспоримыми преимуществами перед другими материалами: возможностью подбора нужного состава, удовлетворяющего любым требованиям, высокой прочностью при небольшой массе, повышенными усталостной прочностью и стойкостью к коррозии. При приложении нагрузки к непрерывной фазе нагрузка передается на дисперсную усиливающую фазу, выбор типа и содержание армирующего наполнителя при этом могут быть осуществлены исходя из эксплуатационных требований. Превосходные свойства композитов и экономическая выгода от их применения привели к тому, что они встречаются почти повсеместно в нашей жизни.

В исследовании углеродсодержащих композитов за последние 40 лет достигнуты большие успехи благодаря международному сотрудничеству. Современная история углеродных волокон началась в 1960-х годах с работы А. Шиндо (Промышленный исследовательский институт, Осака, Япония). Западные исследователи начали использовать углеродные волокна в качестве армирующих немного позже, и первое промышленное волокно было произведено в Англии в 1967 г. [1]. Традиционные углеродные композиты, применяемые сегодня, представляют собой микрометровые углеродные волокна, введенные в различные полимерные матрицы. Композиты для аэрокосмического использования содержат препрег (армирующий материал, предварительно пропитанный связующим) или волокна, пропитанные смолой. Слои препрега выравнивают и располагают в соответствии с желаемой формой, затем смесь нагревают, чтобы завершить отверждение смолы. Смола обеспечивает передачу нагрузки на армирующие элементы и защищает наполнитель от вредного окружающего воздействия. Полимерные связующие составляют наиболее обширную группу смол и делятся на термопласты и реактопласты [1]. Реактопласты в отвержденном состоянии химически шиты, а термопласты можно расплавить и охладить для получения окончательной формы. Реактопласты, как правило, более жесткие и лучше работают при повышенных температурах, благодаря чему исторически именно они используются в качестве материалов-

матриц в композитах для аэрокосмического назначения [2]. Эпоксидные олигомеры являются реактопластами, их широко применяют в экспериментальной работе из-за отличной адгезии, высокой прочности, возможности переработки различными методами [2].

Научные достижения привели к созданию промышленных композитов с улучшенными свойствами, последними разработками стало введение в композиты углеродных нанотрубок и нановолокон, вследствие чего эти материалы приобретают уникальные электрические, механические и термические свойства. Вслед за открытием Ииджимой углеродных нанотрубок в 1991 г. [3] произошел переход углеродных композитов от микро- к наноструктурированным. Высочайшая механическая прочность углеродных нанотрубок и волокон обусловлена С=С-связями графита [4]. Поскольку масштаб структуры углеродных волокон близок к молекулярному уровню, можно ожидать достижения теоретически рассчитанных свойств материала [5].

Когда к волокну прикладывается механическая нагрузка, она распределяется поверхностью всего волокна. Но при наличии дефекта передача напряжения становится невозможной — в области дефекта локализуются напряжения. Таким образом, дефекты и пустоты способствуют началу механического разрушения [6]. Ухудшение свойств также проявляется при приложении термической и электрической нагрузки к углеродному волокну. Естественно, одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ), которые содержат мало дефектов, являются превосходным армирующим наполнителем при воздействии напряжения, совпадающего по направлению с осью нанотрубки. К сожалению, ОУНТ сложно и дорого производить [4]. Трудности синтеза ОУНТ вынудили исследователей использовать многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) и углеродные волокна [4].

Многостенные нанотрубки состоят из внутренней нанотрубки, окруженной коаксиальными трубками большего диаметра. Разные слои МУНТ связаны вместе π -связями. Благодаря доминированию внутрислоевых σ -связей возможным участком механического разрушения являются более слабые межслоевые π -связи. Такой тип разрушения называется «меч в ножнах» (имеется виду, что внешние слои являются «ножами» внутренних слоев нанотрубки) [7]. Углеродные нановолокна похожи на МУНТ: обе структуры состоят из слоев углерода, окружающих внутреннюю полую область. Выступающие на поверхность нановолокон графеновые грани химически реакционноспособны из-за свободных связей, что позволяет олигомерной матрице в значительной степени проникать в волокно, увеличивая межфазную поверхность между двумя фазами. Посредственными физическими свойствами углеродных нановолокон нивелируются их низкой стоимостью и способностью смачиваться смолами, при этом адгезия между матрицей и армирующим наполнителем улучшается.

Предметом этой главы является анализ влияния на механические, термические и электрические свойства нанокompозитов добавок к полимерным матрицам ряда углеродных наноматериалов, таких как

нановолокна. Конечно же, сперва необходимо определить оптимальное содержание нановолокон, необходимое для улучшения свойств конечного нанокompозита. Ниже будут рассмотрены некоторые эксперименты по изучению влияния термической обработки нановолокон, модификации поверхности специфическими функциональными группами, а также исследование реологических свойств нанокompозитов в процессе их переработки, например при литьевом прессовании пластмасс.

2.2. Очистка и термообработка нановолокон

Термообработка (карбонизация и графитизация) является эффективным методом уменьшения дефектности углеродных нановолокон, в результате которой улучшаются электрические и механические свойства материалов. Графитизация вызывает структурные изменения, которые приводят к совершенствованию решетки.

Эндо с сотрудниками [8] подвергали термообработке (от 1800 до 3000 °C) углеродные нановолокна со структурой конусного типа и следили за изменением структуры. Наличие усеченных конусов обуславливает высокую химическую реакционную способность на внешней поверхности и с внутренней стороны полости, так как на концах графеновых плоскостей имеются активные участки. Термообработка при 3000 °C вызывает трансформацию поверхности и образование энергетически стабильных «петель» между соседними графеновыми слоями из нестабильных наружных краев как внешней, так и внутренней поверхности. Исследование волокон методом дифракции рентгеновских лучей и рамановской спектроскопии выявило увеличение межслоевого пространства графитизированных образцов, что может быть обусловлено образованием множества петель между соседними графеновыми слоями. Отсутствие разделения линий (100) и (101) и слабая интенсивность линий (004) указывают на то, что нановолокна достигли относительно низкой степени графитизации, вызываемой термообработкой при 3000 °C. Образование петель начиналось при температуре ниже 2100 °C и в ходе повышения температуры до 3000 °C за этим следовали некоторые изменения внешней поверхности углеродных нановолокон. При увеличении температуры термообработки наблюдалось уменьшение удельного электрического сопротивления углеродных нановолокон из-за образования большого количества петель, особенно на внешней поверхности углеродных нанотрубок. Значительное снижение удельного электрического сопротивления термообработанных при 1800 °C нановолокон по сравнению с исходными связано с изменением структуры материала (выделением летучих веществ).

Лим с сотрудниками исследовали влияние механической и химической обработки на морфологию волокон в структурах типа «стопка монет» [9]. Термообработка при 2800 °C вызывала образование закрытых петель на поверхности нановолокон, образующихся при складывании плоских шестиугольников по ребрам, уменьшению количества

C–H-связей, приводящему к плотному складыванию гексагональных слоев графена, при этом на краях образовывались химически активные участки. Края были стабилизированы связыванием «монет» друг с другом даже несмотря на возникновение напряжений при складывании слоев. Кислотное окисление нановолокон приводило к удалению концов закрытых петель, что сказывалось на выравнивании графеновых слоев. Оба вида обработки способствовали образованию большого количества свободных краев и высокой степени графитизации, что указывает на возможность улучшения межфазной связи с полимерной матрицей.

В работе Катаямы с соавторами, посвященной изучению влияния термообработки на МУНТ со структурой типа «бамбук», было показано, что термообработка при 2800 °C приводила к уменьшению межслоевого пространства до такой же степени, как у графита [10]. К тому же в структуре были вскрыты микрополости и из нанотрубок были полностью удалены металлические примеси. Правда, уменьшение межслоевого пространства противоречит наблюдениям Эндо с соавторами относительно термообработки углеродных нановолокон при 3000 °C.

Киселев с соавторами структурные изменения МУНТ, вызванные термообработкой, исследовали при помощи электронной микроскопии высокого разрешения [11]. Было замечено образование связей между соседними петлями открытых краев — как с внутренних, так и с наружных сторон поверхности. Радиусы закругления петель составляли от 1,05 до 1,40 нм, что близко к диаметру ОУНТ. Степень связанности углеродных слоев зависела от температуры термообработки. После обработки при 1200 °C наблюдали небольшое количество связанных слоев по внешним сторонам нанотрубок. При термообработке выше 2000 °C число петель на единицу объема возрастало, петли появлялись как на внешней, так и на внутренней поверхностях.

Изучалось влияние термообработки и на свойства нанокомпозитов. Ксу с соавторами исследовали электрические свойства нанокомпозитов на основе нановолокон, термообработанных при 3000 °C, и винилового сложного эфира [12]. При содержании волокон от 2 до 3% был обнаружен порог перколяции. Термообработанные волокна оказались лучшими проводниками, чем пиролизически очищенные волокна. Высокая активность поверхности термообработанных волокон должна приводить к образованию более толстого слоя смолы и более глубокому затеканию связующего в волокна при смешении. Однако модуль эластичности нанокомпозитов оказался равным модулю чистой смолы. Возможно, это вызвано недостаточным диспергированием волокон в матрице. К тому же измеренная температура стеклования нанокомпозитов с термообработанными волокнами оказалась примерно на 20 °C выше, чем температура стеклования нанокомпозита с пиролизически очищенными волокнами.

Финеган с соавторами [13] отметили, что большее количество графитизированных волокон с высоким индексом графитизации дают композиты с пониженными прочностью и модулем упругости. Графитизированные волокна сильнее выступают из поверхности излома ком-

позитов на основе полипропилена, чем окисленные воздухом волокна, что свидетельствует о существенно более низкой межфазной сдвиговой прочности графитизированных волокон. Полимер в любом случае отталкивается от поверхности волокон, и это свидетельствует о том, что низкое межфазное взаимодействие не сильно зависит от смачивания поверхности. Результаты этого исследования могут быть подтверждены опытами по измельчению различных образцов нановолокон, в результате которого аспектное отношение волокна снижается.

Куригер с соавторами [14] исследовали термические и электрические свойства термообработанных композитов нановолокно/полипропилен. Оказалось, что с увеличением объемной доли волокон удельное электрическое сопротивление снижается. Электрическая проводимость композитов определяется перколяцией и квантово-механическим туннельным эффектом между волокнами. Для исследуемых композитов удельное электрическое сопротивление было существенно ниже, чем для полимеров, армированных стеклянными волокнами. Теплопроводность возрастала с увеличением наполнения композита и достигала максимума $5,38 \text{ Вт}/(\text{м} \cdot \text{К})$ в продольном направлении при содержании волокон 23% (об.).

Ма с соавторами [15] изучали свойства нанокомпозитов термообработанные нановолокна/сложный полиэфир. Проведя термогравиметрический анализ, они обнаружили, что деструкция нановолокон, термообработанных при 3000°C , начинает проявляться при температуре около 700°C , что выше, чем для исходных нановолокон (около 300°C). Модуль при растяжении нанокомпозитов был немного выше, чем модуль связующего, а прочность при растяжении была сравнима с прочностью связующего и значительно выше, чем прочность композитов с пиролитически обработанными волокнами. Тот факт, что добавление термообработанных волокон не улучшает эластичных свойств связующего, может быть объяснен наличием графитовых плоскостей, не выровненных параллельно оси нановолокон. Это мешает ориентации нановолокон в смоле. В дополнение, термообработанные нановолокна были обработаны в шаровой мельнице, что привело к уменьшению соотношения их длины к диаметру (аспектного отношения) и, соответственно, снизило их прочностные свойства. Прочность при сжатии и модуль сдвига композитов с термообработанными волокнами были значительно выше, чем у исходной смолы. Нановолокна могут являться препятствием для распространения трещин, таким образом улучшая свойства композитов под действием сжимающей нагрузки.

В данном исследовании [15] использовались углеродные нановолокна марки PR-24, производимые компанией Applied Sciences, Inc. (Седарвилль, Огайо). Этот вид нановолокон характеризуется диаметром $60\text{--}100 \text{ нм}$ и длиной $30\text{--}100 \text{ мкм}$. Нановолокна были подвергнуты термообработке (от 1500 до 3000°C) для того, чтобы индуцировать изменение свойств армирующего наполнителя, способствующего физическому и химическому взаимодействию между нановолокнами и эпоксидным полимером. Силу адгезионной связи эпоксидной матрицы

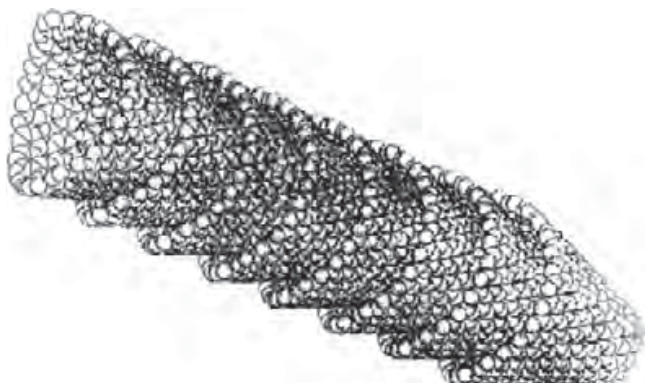


Рис. 2.1. Углеродное нановолокно, состоящее из сложенных конических секций решетки графита. С любезного разрешения М. Эндо

(реактопласт) оценивали посредством измерений прочности и модуля упругости при изгибе (ASTM D790-00), электрических (ASTM B193-87) и термических свойств (ASTM E1269-89, ASTM C693-74) композитов (при разной температуре термообработки углеродных нановолокон). Углеродные наполнители вводились в эпоксидную матрицу в количестве 4, 8 и 12% (масс.). Предыдущая работа показала, что наполнение свыше 12% приводит к снижению механических свойств нанокompозита, к тому же переработка нанокompозитов со степенью наполнения выше 12% затруднена с точки зрения получения однородной смеси. Исходные углеродные нановолокна (не подвергнутые обработке) обозначали как PS.

Для понимания свойств, которые делают углеродные нановолокна уникальными, были охарактеризованы внутренняя микроструктура и поверхность образцов нановолокон. Исходные нановолокна (и нановолокна с обработанной поверхностью) состоят из вложенных друг в друга нанотрубок (рис. 2.1). Вложенные нанотрубки имеют такую же ориентацию, что и ряд последовательно вложенных друг в друга конусов Dixie cup с полый сердцевинкой, которые часто называют углеродными волокнами со структурой типа «елочка» [17]. При низких температурах (ниже 1200 °C) углеродный материал имеет только ближний порядок молекулярный упорядоченности. На начальных стадиях термообработки ароматические молекулы начинают перестраиваться, образуя структуры в виде столбиков. Дальнейшее повышение температуры вызывает коалесценцию волокон с образованием волнистой структуры. При температурах выше 2500 °C искривление графеновых слоев уменьшается, структура выравнивается. Если материал графитизированный, слои графена будут максимально прижаты друг к другу. Те же закономерности проявляются и в структуре нановолокон. После термообработки исходных нановолокон при температуре 3000 °C графеновые слои выпрямляются, при этом межслоевое расстояние стремится

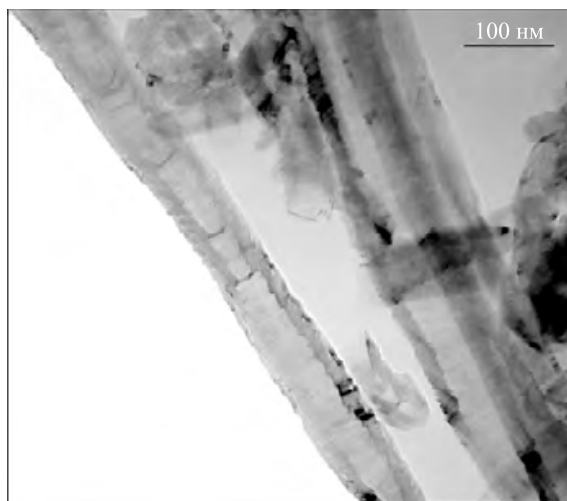


Рис. 2.2. Светлопольная микрофотография углеродного нановолокна Dixie sup

к минимально возможному. Как видно в просвечивающий электронный микроскоп (рис. 2.2 и 2.3), слои внутри конусов после термообработки соединяются, но сохраняют угол наклона своего конуса. Стенки нановолокон на рисунках выглядят более темными из-за их высокой электронной плотности.

При большом увеличении слои графена кажутся идеально прямыми, без искажающих дефектов. И все-таки углы наклона к централь-

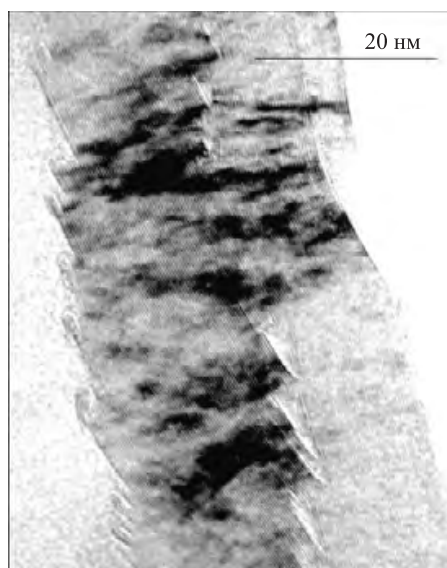


Рис. 2.3. Фотография высокого разрешения выборочного участка структуры Dixie sup

ной оси оболочки после термообработки не меняются. Края любой пары слоев графена скругляются, закрывая собой выступающие плоскости углерода. Путем открытия графеновых поверхностей можно добиться достижения максимальной структурной стабильности.

Механические свойства исследуемых образцов иллюстрируют рисунки 2.4 и 2.5. Модуль упругости при изгибе возрастает с увеличением содержания нановолокон. Максимальный модуль (3,5 ГПа) был достигнут для нанокомпозитов, содержащих 12% (масс.) нановолокон, термообработанных при 1800 °С. При дальнейшем увеличении температуры термообработки до 2000 и 3000 °С модуль упругости при 12% наполнения снижается до 3,1 и 3,0 ГПа соответственно. Это указывает на то, что при увеличении степени графитизации адгезия между углеродным нановолокном и эпоксидной смолой снижается. Увеличение графитизации нановолокон может вызвать образование петель из слоев графена, уменьшая таким образом количество свободных краев для связи с полимерной матрицей. Однако по сравнению с исходными нановолокнами термообработанные углеродные нановолокна имеют лучшие свойства (для исходных PS-нановолокон модуль при наполнении 12% был равен 2,6 ГПа), что можно объяснить удалением «грязных» групп — полиароматических углеводородов, серы и кислорода, функциональных групп на основе азота, после чего свободные края поверхностей графена связываются с эпоксидом.

При увеличении наполнения в случае с термообработанными нановолокнами предел прочности нанокомпозитов снижается. Нановолокна, термообработанные при 1800 °С, проявляют наибольшую прочность по сравнению со всеми другими термообработанными волокнами при разных степенях наполнения. Термообработка оказывает положитель-

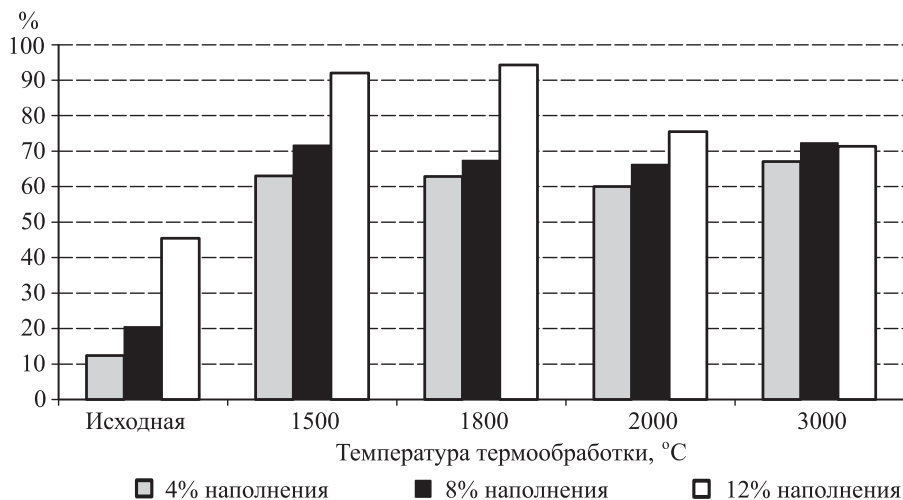


Рис. 2.4. Процентное увеличение модуля упругости при изгибе нанокомпозитов по отношению к немодифицированному пластику как функция температуры термообработки нановолокон

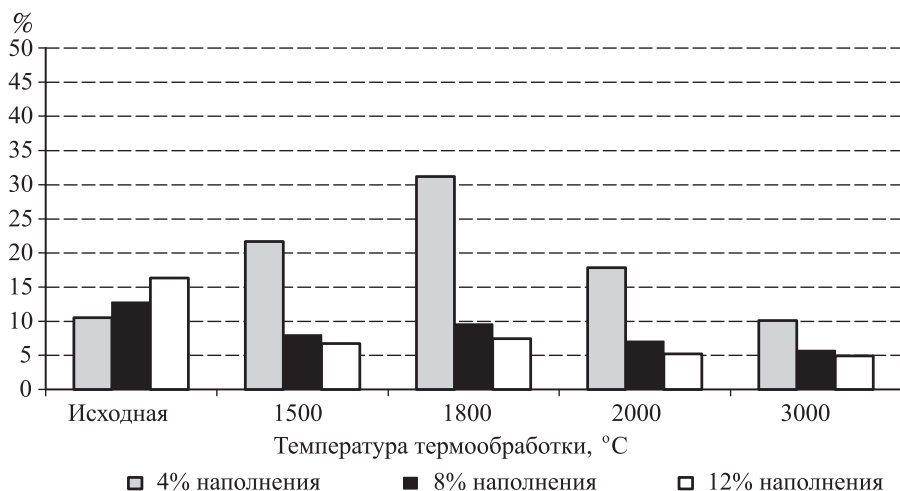


Рис. 2.5. Процентное увеличение прочности нанокompозитов по отношению к немодифицированному пластику как функция температуры термообработки нановолокон

ное воздействие на прочность при низком (4 масс. %) содержании нановолокон, однако при более высоком наполнении (8 и 12 масс. %) эффекта упрочнения не наблюдается. Незначительное повышение прочности по сравнению с уменьшением модуля может указывать на то, что химическая адгезия между нановолокном и эпоксидной матрицей не оптимизирована. Адгезию можно усилить путем химической функционализации волокна. Еще один способ увеличения прочности нанокompозита — упорядочение нановолокон в одном направлении в матрице.

Термообработка нановолокон может привести к значительному улучшению электрических и термических свойств нанокompозитов, что объясняется изменениями структуры (рис. 2.6). Соединение графеновых слоев и нановолокон способствует более эффективному транспорту фононов и электронов.

Уже при добавлении 4% исходных PS-нановолокон удельное электрическое сопротивление нанокompозита падало на 5 порядков по сравнению с чистой эпоксидной смолой; термообработка нановолокон при температуре до 1500 °C снижала сопротивление на 6 порядков, а при 3000 °C — на 9 порядков. В дополнение было показано, при увеличении температуры термообработки сопротивление снижается от 440 Ом·см при содержании нановолокон 4%, термообработанных при 1500 °C, до 94 Ом·см при том же содержании, термообработанных при 3000 °C. Дальнейшее увеличение степени наполнения композита этими наноструктурами приводит к снижению электросопротивления. Так, удельное электрическое сопротивление нанокompозитов, содержащих 12% нановолокон, термообработанных при 1500 °C, оказалось равным 6,5 Ом·см, а нанокompозитов с 12% нановолокон, термообработанных при 3000 °C, — равным 1,2 Ом·см.

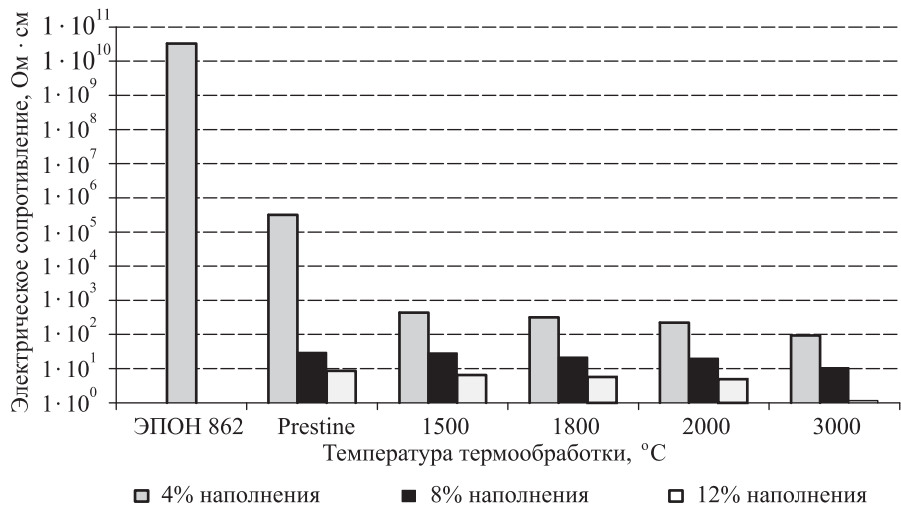


Рис. 2.6. Электрическое сопротивление нанокомпозитов как функция температуры термообработки нановолокон

Теплопроводность исходной эпоксидной смолы аналогичным образом значительно возрастает при добавлении нановолокон (рис. 2.7). Добавление 4 и 12% исходных PS-нановолокон сказалось на возрастании теплопроводности смолы (на 21% и 105% соответственно). Термообработка нановолокон при 1500 °C привела к возрастанию теплопроводности на 64% при содержании волокон 4% и на 194% при содержании 12%. Термообработка нановолокон при 3000 °C увеличивает теплопро-

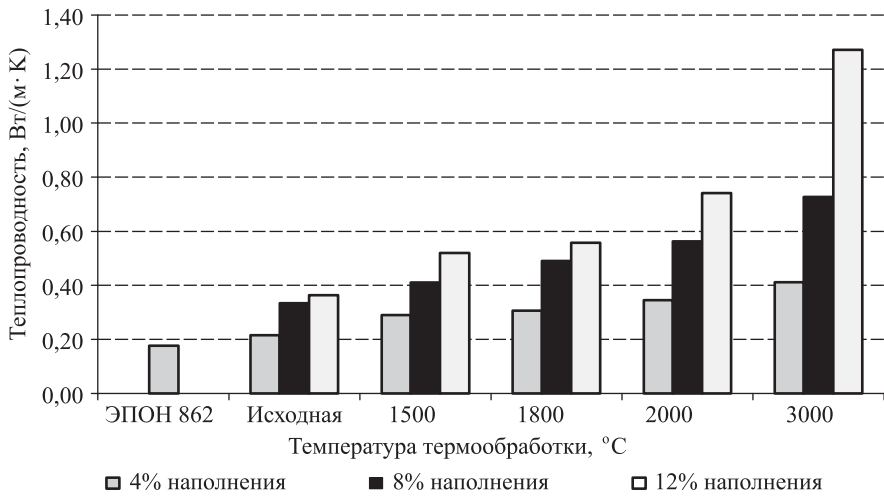


Рис. 2.7. Теплопроводность нанокомпозитов как функция температуры термообработки нановолокон

водность на 133% при содержании нановолокон 4% и на 6191% при содержании 12%. Степень связанности и уменьшение межслоевого расстояния между слоями графена приводят к существенному росту теплопроводности и к низкому удельному электрическому сопротивлению.

Благодаря термообработке из углеродных нановолокон удаляются загрязнители, физические свойства меняются. В процессе термообработки структура внутри углеродного нановолокна меняется от ближнего молекулярного порядка до структуры со связанными упорядоченными графеновыми слоями. Термообработка нановолокон при 1800 °C приводит к улучшению прочности и модуля при изгибе нанокомпозитов. Дополнительная термообработка при более высоких температурах — к структурированию в графеновые слои и, как следствие, — понижению механических свойств из-за низкой адгезии к эпоксидной матрице, обусловленной уменьшением количества активных краев графеновых слоев, способных образовывать связь с полимерной матрицей. Соединение графеновых слоев внутри нановолокон способствует более эффективному транспорту электронов и фононов, а следовательно, приводит к существенному снижению электрического сопротивления и возрастанию теплопроводности эпоксидной смолы. Термообработка нановолокон позволяет достичь очень высоких электрических и термических показателей при низких содержаниях волокон, которые не могут быть получены при использовании исходных пиролитически очищенных углеродных нановолокон.

Исследования нанокомпозитов на основе термообработанных нановолокон показывают, что условия обработки определяются желаемыми свойствами продукта. Если требуется получить нанокомпозит с высокими механическими свойствами, нановолокна не нужно подвергать термообработке при температуре выше 1800 °C. Однако если желаемый результат получения нанокомпозита — хорошие характеристики электро- или теплопроводности, нановолокна должны быть термообработаны при температуре 3000 °C. При такой высокой температуре межслоевое расстояние в структуре становится минимальным, что приводит к эффективному транспорту электронов и фононов, графеновые области прижимаются петлями друг к другу, уменьшая, таким образом, область возможного связывания со смолой. Следовательно, лучшим методом повышения межфазной адгезии может стать химическая функционализация поверхности нановолокон, в результате которой на поверхности появятся функциональные группы, при этом структура нановолокна останется без изменения.

2.3. Влияние адгезии между нановолокном и матрицей на свойства полимерных нанокомпозитов

Считается, что для улучшения механических свойств композитов, армированных нановолокнами, волокно желательно функционализировать. При этом в нанокомпозите улучшается перераспределение напряжений

между матрицей и волокнами. Адгезия между матрицей и волокном зависит от химических и физических взаимодействий на межфазной границе. В литературе описано множество способов обработки поверхности углеродных волокон: окислением в газовых и жидких средах, травлением и т. д. Плохая адгезия между волокном и матрицей может приводить к разрушению композита в межфазной области, в результате чего механические свойства композита ухудшаются.

Поверхностная модификация углеродных нановолокон меняет степень графитизации волокна и увеличивает площадь его поверхности. Лим с соавторами [9] исследовали нановолокна типа «стопка монет» на предмет влияния различного вида обработки на их морфологию (см. выше). Термообработка при 2800 °C вызывала появление петель на поверхности нановолокон, образованных складыванием некоторых плоских шестиугольников по их граням. При этом количество C–H-связей уменьшалось, сложенные гексагональные слои графена на краях образовывали химические активные области. В процессе кислотного окисления нановолокон петли исчезают, графеновые слои выравниваются. Оба типа обработки приводят к появлению большого количества свободных краев и повышают степень графитизации, что указывает на возможность улучшения межфазной связи наполнителя с полимерной матрицей.

Тойбес с соавторами [17] исследовали влияние жидкофазного окисления углеродного нановолокна в азотной кислоте и смесях азотной и серной кислот, которому оно подвергалось не более двух часов. Графитовая структура нановолокон при обработке сохранялась, но из-за увеличения удельной поверхности и объема пор за счет открытия внутренних полостей существенно менялась текстура волокон. Общее содержание кислорода и поверхностных кислородсодержащих функциональных групп зависело от времени обработки и типа кислоты. В приповерхностной области волокон толщиной 2–3 нм также образовывались кислородные группы.

Буберт с соавторами [18] исследовали влияние плазменной обработки на поверхностные свойства нановолокон методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФС), комбинированной с напылением ионов, кислотнo-основным титрованием, дериватизацией карбонильных групп, пиролизом и СН-анализом. Результаты показали, что поверхность волокна покрыта мономолекулярным кислородсодержащим слоем, обработка нановолокон плазмой приводит к полной функционализации кислородом верхнего поверхностного слоя. РФС позволяет определить среднее число функциональных групп в первых 10–15 молекулярных слоях.

Опубликован ряд результатов по влиянию химической модификации на свойства нанокompозитов. Ксу с соавторами включили в исследования электрических свойств нанокompозитов [19] композиционные материалы на основе сложного винилового эфира и нановолокна, окисленные азотной кислотой. Сопротивление нанокompозитов с окисленными волокнами оказалось намного выше, чем сопротивление

нанокомпозитов с необработанными волокнами. Было показано, что окисление увеличивает содержание кислорода примерно на 20% путем образования ангидридных, хининовых, простых эфирных и сложных эфирных функциональных групп. Функциональные группы также должны улучшить смачивание полимерной матрицей. Сильная связь между матрицей и волокном может привести к обволакиванию волокна и эффекту инкапсулирующего покрытия.

Финеган с соавторами [13] исследовали механические свойства нановолокон на основе полипропилена и углеродных нановолокон с целью оптимизировать поверхностную обработку углеродных нановолокон. Адгезия между волокном и матрицей была качественно исследована методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), прочность и жесткость композитов оценивались по испытаниям на растяжение. Один образец нановолокон был окислен на воздухе при 450 °С, а второй образец подвергся действию диоксида углерода в трубчатой печи. Адгезия между матрицей и волокном улучшалась при умеренном окислении волокон либо воздухом, либо диоксидом углерода. Окисление диоксидом углерода было более эффективным, так как оно увеличивало площадь внешней поверхности и поверхностную энергию волокон. Тем не менее при изготовлении нанокомпозитов волокна подвергаются силовому воздействию (когда его, например, измельчают в шаровой мельнице), при этом изменение соотношения размеров волокон может приводить к ухудшению механических показателей.

Кортес с соавторами [20] подвергали углеродные нановолокна химической обработке в азотной кислоте перед смешиванием с полипропиленом. Окисленные волокна не улучшили электрические свойства полимера, не привели к значительному изменению механических свойств композитов, их введение вызвало только уменьшение прочности при растяжении. Полученные нанокомпозиты содержали 5% углеродных волокон, выращенных из газовой фазы. Более высокое содержание волокон может приводить к повышению механических свойств композитов. Композиты, армированные обычными углеродными волокнами, исследовались с целью обеспечения прочной адгезии между поверхностью волокна и матрицей для эффективной передачи напряжений от матрицы к волокнам. Для этого предпочтительно проводить непрерывное электрохимическое окисление поверхности. Эта обработка проводилась в кислых и щелочных растворах сульфата аммония, бикарбоната аммония, гидроксида натрия, кислого диаммонийфосфата, азотной кислоты.

Анодное окисление волокон в электролитах может привести к различным физическим и химическим изменениям поверхности волокон. Харви с соавторами [21] исследовали поверхности обычных углеродных волокон методом РФС после электрохимической обработки в гальваностатическом и потенциостатическом режимах при изменяющихся напряжении, времени реакции и в разных электролитах. Они отметили, что возрастание межслоевого напряжения сдвига при обработке поверхности не зависит от соотношения атомов O-1s : C-1s, или коли-

чества функциональных карбоксилсодержащих групп на поверхности, подтверждая таким образом точку зрения, что механическое затекание смолы в волокно играет важную роль в формировании связи смола–волокно.

Гилиас с соавторами [22] окисляли углеродные волокна на основе полиакрилонитрила (ПАН) в различных условиях (концентрация электролита и напряжение) и с применением разных электролитов. Функциональные группы, образующиеся на поверхности волокон, зависели от типа используемого электролита, количество функциональных групп на поверхности волокна определялось концентрацией электролита и напряжением. Была обнаружена прямая корреляция между химией поверхности и адгезией матрица–волокно. Концентрация определенных функциональных групп может быть количественно связана с межслоевым напряжением сдвига.

Юи с соавторами [23] подвергли процедуре постоянного электрохимического окисления высокопрочные углеродные волокна на основе ПАН в растворе 1% (масс.) нитрата калия. При окислении усиливалась потеря массы волокнами и образовывалась развитая внутренняя микропористая поверхность. Также методом РФС было показано увеличение содержания кислорода в поверхностном слое волокна (до 50 Å). Спектры C-1s и O-1s выявили увеличение содержание первичных карбоксильных или лактонных групп. Обогащенные кислородом поверхности в микропористых областях хемосорбировали кислород и воду. Разделение пиков O-2s и C-2s в спектрах валентной зоны в ходе окисления увеличивалось из-за вклада карбонильных групп.

В исследовании Лафди с соавторами [24] углеродные нановолокна подвергались электрохимическому окислению в 0,1 М растворе азотной кислоты при различной длительности воздействия с целью модификации их поверхности в композитах с эпоксидом. Для характеристики поверхностей использовалась рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, определялось содержание углерода, кислорода и азота. Адгезия между волокном и эпоксидной матрицей оценивалась по прочности и модулю при растяжении и по электрическим и тепловым свойствам исследуемых образцов в зависимости от степени поверхностной обработки углеродных нановолокон.

Поверхность нановолокон обрабатывали электрохимически с использованием в качестве электролита азотной кислоты (1 масс. %). Примерно 15 г нановолокон для каждого опыта помещали в закрытые проницаемые пластмассовые мензурки и погружали в раствор кислоты. На основе результатов предыдущих исследований была выбрана степень наполнения нановолокон 12% (масс.), при которой достигались максимальные механические свойства. К графитовым электродам, приведенным в контакт с упакованными нановолокнами, был приложен ток 0,1 А. Время обработки составляло 30 с, 1 мин, 2 мин, 4 мин, 8 мин и 15 мин. После обработки окисленные волокна промывали дистиллированной водой до достижения нейтрального значения pH и высушивали под вакуумом при 100 °С в течение 48 ч.

Функционализированные углеродные нанотрубки были охарактеризованы с использованием рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии. Образцы ориентировали таким образом, чтобы они оказались в поле действия рентгеновского источника и напротив детектора анализатора. Во время всех РФС-экспериментов давление внутри вакуумной системы поддерживалось на уровне 1 мм рт. ст. Обработку результатов проводили по нелинейному методу наименьших квадратов с обратным преобразованием гауссовой и лоренцовой смешанной функции, восстановленной из свертки.

Для получения нанокompозита углеродные нановолокна сначала диспергировали в эпоксидной матрице (марка EPON™ 862), а затем проводили отверждение под давлением в силиконовой форме. В ходе эксперимента РФС была охарактеризована поверхность нановолокон (табл. 2.1). Было обнаружено увеличение содержания кислорода от 2% для исходных волокон до 8,6% для волокон, обработанных в течение 15 мин. Пик № 1 был пренебрежимо мал во всех случаях. Возрастание относительной концентрации комплексов углерода и кислорода обусловлено тем, что поверхность волокон становится все более пористой, при этом доля атомов углерода, соответственно, возрастает. Область окисления, таким образом, увеличивается, и относительное количество кислорода возрастает.

Таблица 2.1

**Зависимость содержания О и С в нановолокнах
от времени электрохимической обработки**

Образец	Содержание кислорода, %	Содержание углерода, %
Исходный	2,0	98,0
Обработанный в течение 30 с	2,3	97,7
Обработанный в течение 1 мин	2,8	97,2
Обработанный в течение 2 мин	3,5	96,5
Обработанный в течение 4 мин	4,2	95,8
Обработанный в течение 8 мин	5,4	94,6
Обработанный в течение 10 мин	7,6	92,4
Обработанный в течение 12 мин	8,3	91,7
Обработанный в течение 15 мин	8,6	91,4

Таблица 2.2

Механические свойства нанокомпозитов

Образец и время обработки (мин)	Время обработки поверхности, мин	Содержание, % (масс.)	Модуль упругости при изгибе, ГПа	Относительное среднее квадратическое отклонение	Прочность, ГПа	Относительное среднее квадратическое отклонение
EPON 862		0	1,7730	0,0688	0,0976	0,0018
PR-24-PS	0	12	2,5783	0,1267	0,1196	0,0057
PR-24-PS-ET (0,5)	0,5	12	2,6898	0,5464	0,0901	0,0143
PR-24-PS-ET (1)	1	12	2,7399	0,1619	0,1037	0,0076
PR-24-PS-ET (2)	2	12	2,8014	0,1124	0,1072	0,0150
PR-24-PS-ET (4)	4	12	3,0261	0,3434	0,1017	0,0071
PR-24-PS-ET (8)	8	12	3,4915	0,0217	0,1163	0,0093
PR-24-PS-ET (10)	10	12	3,9535	0,0118	0,1263	0,0087
PR-24-PS-ET (12)	12	12	4,4856	0,0123	0,1462	0,0068
PR-24-PS-ET (15)	15	12	3,0690	0,3558	0,1041	0,0099

Умеренная электрохимическая обработка увеличивает модуль упругости при изгибе нанокомпозитов благодаря улучшению адгезии между волокном и смолой (табл. 2.2). Обработка в течение 30 с приводит к повышению модуля при изгибе на 4,32%. Максимальное значение, соответствующее 74% от первоначального значения, достигается при 12-минутной электрохимической обработке. Дальнейшее увеличение времени электрохимической обработки вызывает снижение модуля упругости при изгибе, что может быть отнесено к образованию окисленного слоя, приводящего к разрушению связи волокно–смола. Еще одна возможная причина — разрушение поверхности волокна из-за большой продолжительности электрохимической обработки.

В значениях теплопроводности значительных изменений не наблюдалось (табл. 2.3). Электрическое сопротивление нанокомпозитов с увеличением времени электрохимической обработки даже уменьшалось, что можно соотнести с образованием изолирующего кислородсодержащего слоя на поверхности волокна.

Таблица 2.3

Термические и электрические свойства нанокompозитов

Образец и время обработки (мин)	Время обработки поверхности, мин	Содержание, % (масс.)	Сопротивление, Ом · см	Теплопроводность, Вт/(м · К)	Плотность, г/см ³
EPON 862		0	$3,28 \cdot 10^{10}$	0,1768	1,198
PR-24-PS	0	12	1,58	0,3731	1,252
PR-24-PS-ET (0.5)	0,5	12	4,13	0,2992	1,237
PR-24-PS-ET (1)	1	12	$5,16 \cdot 10^1$	0,3476	1,253
PR-24-PS-ET (2)	2	12	$3,14 \cdot 10^3$	0,3303	1,246
PR-24-PS-ET (4)	4	12	$5,57 \cdot 10^6$	0,3032	1,240
PR-24-PS-ET (8)	8	12	$3,35 \cdot 10^7$	0,3290	1,235
PR-24-PS-ET (10)	10	12	$5,56 \cdot 10^{10}$	0,3334	1,257
PR-24-PS-ET (12)	12	12	$4,54 \cdot 10^9$	0,3493	1,234
PR-24-PS-ET (15)	15	12	$3,69 \cdot 10^{10}$	0,3348	1,254

Исследования поверхности разрушения после механических испытаний методом сканирующей электронной микроскопии выявили наличие слабой адгезии, обусловленной ковалентными связями в межфазной области между волокном и эпоксидной смолой (рис. 2.8 и 2.9). Между фазами были замечены пустоты, в расположении которых от одного образца к другому не прослеживалось никакой закономерности (указаны стрелками на рисунках).

Отсутствие эффективной передачи механической нагрузки от одной фазы к другой приводит к тому, что механические свойства композита улучшаются лишь номинально. Для лучшего понимания роли химии поверхности нановолокон было изучено влияние поверхностной функционализации нановолокон на механические свойства полученного нанокompозита.

Поверхность разрушения нанокompозитов на основе нановолокон с функционализированной поверхностью существенно отличается от поверхности нанокompозита с необработанными нановолокнами. Вдоль поверхности химически модифицированных нанотрубок в эпоксидной матрице нет полостей, присутствующих в нанокompозитах с пироли-ти-

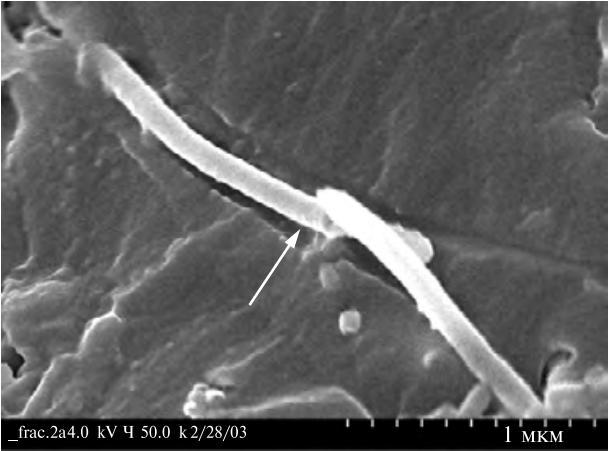


Рис. 2.8. Необработанная поверхность разрушения нанокомпозита на основе нановолокон

чески очищенными нановолокнами (рис. 2.10). Поверхность нанотрубки, которая тщательно исследовалась методами высокого разрешения сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, покрыта «веревками» и шишкообразными наростами, расположенными в форме зубцов пилы. Шишки — это остатки смолы. Тот факт, что поверхность функционализированного нанокомпозита покрыта остатками эпоксидной смолы (рис. 2.11), свидетельствует о том, что нанокомпозиты разрушаются не по межфазной поверхности нановолокно/смола. Смола чаще всего остается присоединенной к нановолокну после разрушения, а разрушение происходит в фазе смолы нанокомпозита. Анализ с помощью просвечивающей электронной микроскопии позволяет получить

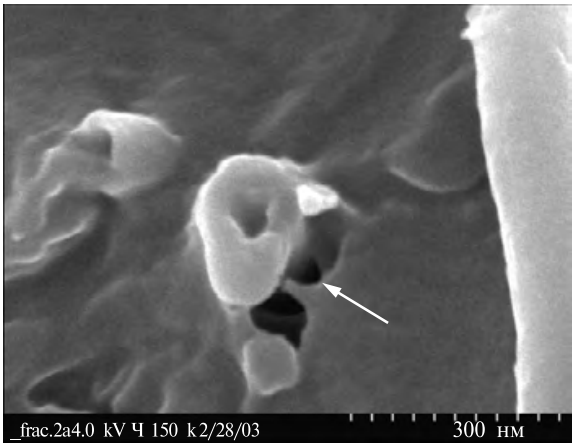


Рис. 2.9. Необработанная поверхность разрушения нанокомпозита на основе нановолокон

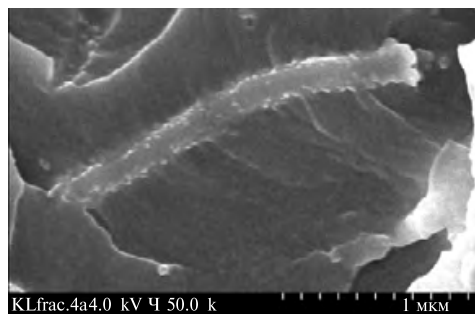


Рис. 2.10. Микрофотография поверхности разрушения нанокомпозита с функционализированной поверхностью, полученная методом сканирующей электронной микроскопии

более детальную картину взаимодействия между модифицированной поверхностью нановолокон и эпоксидной смолой.

Черные стрелки на рисунке 2.12 указывают на открытые концы нановолокон и сами нановолокна внутри матрицы в области разрушения. Микроснимок, полученный при светлопольном освещении, наглядно демонстрирует разницу в электронной плотности с матрицей (области эпоксидной смолы не имеют градации в плотности). Белые стрелки на рисунке указывают на области с наибольшей электронной плотностью, выявляя легкий контраст с другими фазами (черные стрелки). Разница в шкале серого может указывать на некоторые структурные изменения внутри непрерывной матрицы. Такое изображение в срезе дает более четкое представление о градиенте физических свойств в нанокомпозитах с поверхностью функционализированным углеродом.

Анализ с использованием просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (ПЭМВР) позволяет получить более полное представление об изменениях, которые происходят в межфазной области между поверхностно функционализированными углеродными нановолокнами и непрерывной фазой эпоксидной смолы. При высоком

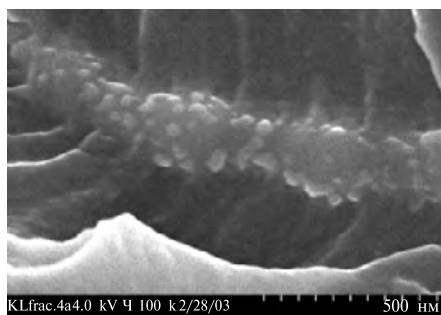


Рис. 2.11. Микрофотография поверхности разрушения нанокомпозита с функционализированной поверхностью нанотрубок, полученная методом сканирующей электронной микроскопии

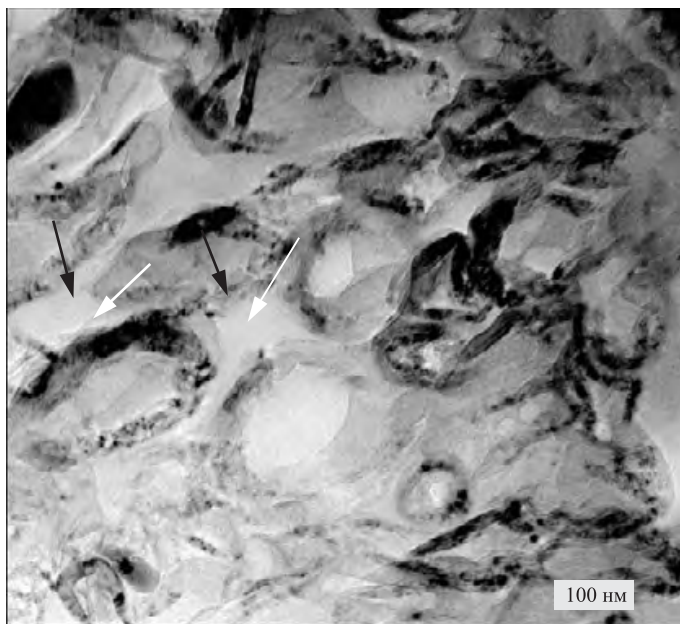


Рис. 2.12. Микрофотография поверхности разрушения нанокомпозита с функционализированной поверхностью нанотрубок, полученная методом просвечивающей электронной микроскопии

разрешении можно увидеть как индивидуальные графеновые поверхности нановолокон, так и область эпоксидной матрицы (рис. 2.13). Проследивая за изменением структуры от верхнего левого угла к нижнему правому углу микрофотографии, можно увидеть, что межфаза с нановолокном организуется в параллельные слои, являющиеся стенками нановолокна. Еще ниже другая межфазная область переходит в фазу эпоксидной смолы с хорошо упорядоченным турбостратным углеродом (около центра на рисунке 2.13). В этой области наблюдается локальная молекулярная ориентация основных структурных звеньев в форме колонн и кластеров с непрерывной предпочтительной ориентацией параллельно оси нановолокна. Полимерная межфазная область не аморфна, она проявляет двумерную упорядоченность аналогично микроструктуре углеродного волокна на основе карбонизованного ПАН. Структура эпоксидов, наблюдаемая в ПЭМВР, обычно похожа на гравий, указывая на их аморфное состояние. Изменение физических свойств коррелирует с присутствием межфазной области. Благодаря химическому взаимодействию между поверхностно функционализированным волокном и смолой был разработан новый материал с уникальными физическими свойствами.

Разработка композитов с высокой прочностью при растяжении в основном построена на учете таких факторов, как массовая доля, прочность нановолокон, распределение волокон в матрице и межфаз-

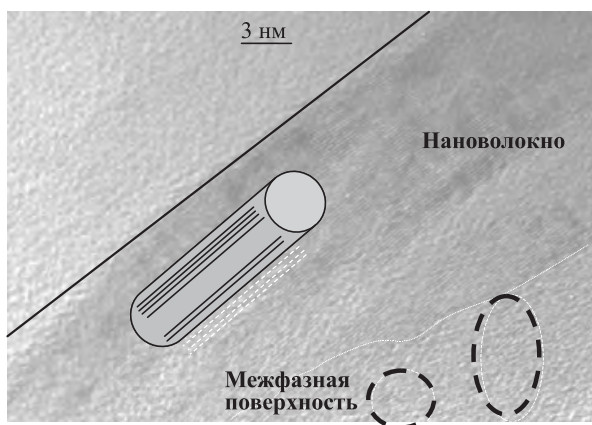


Рис. 2.13. Ориентированная межфазная поверхность между нановолокном и матрицей (просвечивающая электронная микроскопия высокого разрешения)

ное взаимодействие. Выполнить нужное требование по любому из этих факторов не сложно, кроме последнего — из-за инертности гладкой гексагональной поверхности, обычно характерной для нановолокон как класса армирующих наполнителей.

Благодаря наличию открытых графитовых граней на поверхности нановолокон к ним можно присоединять функциональные группы. Введение функциональных групп будет способствовать связыванию нановолокон с материалами полярных матриц, таких как эпоксидные. В результате модификации поверхности значительно улучшаются не только механические свойства нанокомпозитов, но и другие свойства, например теплоемкость полимера (снижается). Такой эффект может быть получен посредством взаимодействия функциональных групп на поверхности волокон и на полимерной матрице. Методом просвечивающей электронной микроскопии было показано, что в результате обработки поверхности между нановолокном и матрицей образуется очень плотная и ориентированная межфаза.

Нанокомпозиты на основе поверхностно-обработанных нановолокон демонстрируют более высокие механические свойства, чем любые нанокомпозиты с необработанной поверхностью волокон. Улучшение механических свойств обусловлено формированием градиента фаз в межфазных областях. Наличие межфазной области обуславливает то, что нанокомпозит ведет себя как одна непрерывная фаза, и в нем происходит эффективное перераспределение механической нагрузки между соседними индивидуальными ингредиентами (нановолокнами и эпоксидной матрицей).

При увеличении интенсивности электрохимической обработки наблюдалось заметное снижение содержания графитизированного углерода и возрастание содержания углерода, связанного с кислородом. Увеличение содержания комплексов углерода и кислорода происходит

из-за того, что внешние слои волокон становятся более пористыми, из-за чего возможно возникновение дополнительных областей окисления. Возрастающее количество кислорода при электрохимической обработке коррелирует с увеличением модуля упругости при изгибе нанокомпозитов с обработанными волокнами. Это указывает на улучшение межфазной адгезии между волокнами и смолой. Обработанные нановолокна ухудшают теплоемкость нанокомпозитов, но не влияют на температуропроводность. Электрическое сопротивление нанокомпозитов уменьшается с увеличением времени электрохимической обработки, частично из-за увеличения концентрации функциональных групп кислорода.

2.4. Анализ на нанометрическом уровне

Измерять механические свойства наноструктур непосредственным образом чрезвычайно трудно, но просвечивающая электронная микроскопия совместно со спектроскопией характеристических потерь энергии электрона (СХПЭЭ) может использоваться как инструмент для измерений на наноуровне. СХПЭЭ имеет разрешение от 1 до 10 нм, поэтому характеризует распределение энергии электронов, неупруго взаимодействующих с образцом.

Далее будет рассмотрено применение плазмонной спектроскопии для определения некоторых свойств материалов, таких как модуль упругости при изгибе, на нанометрическом уровне. Возможность оценки таких свойств для межфазных областей является спорной.

Наблюдаемые пики в энергетическом спектре плазмонов относятся к характеристическим свойствам материала [25–28]. Плазмоны — это продольные волнообразные осцилляции слабо связанных электронов. Пик плазмона — второй по доминантности пик на спектре потерь энергии после пика нулевых потерь. Потери энергии пучка электронов при генерировании плазмона соответствуют значению E_p (обычно $E_p = 5 \div 25$ эВ), которое учитывается при микроанализе. Электроны, теряющие плазмоны, сильно рассеиваются и взаимодействуют с электронами внутри образца.

Ниже рассмотрен аналитический подход к установлению корреляции между энергией плазмона и механическими свойствами [25].

Энергия объемного плазмона E_p меняется с плотностью валентных электронов n материала вследствие возбуждения единичных электронов [30, 31] приблизительно по следующей закономерности:

$$E_p = \left[(\hbar \omega_p)^2 + E_g^2 \right]^{0,5},$$

где $\omega_p = \left[ne^2 / (\epsilon_0 m) \right]^{0,5}$ — плазменная частота несвязанного электрона, E_g — ширина запрещенной зоны, e — заряд электрона, $\epsilon_0 m$ — диэлектрическая постоянная вакуума, m — масса электрона.

На величину E_p влияет состав материала, межмолекулярные связи и зонная структура. Хотя низкоэнергетические межзонные переходы могут уменьшать частоту плазмы из-за увеличения эффективной массы валентных электронов, для всех полупроводников и некоторых диэлектриков $E_g^{\text{з}} \ll E_g^{\text{в}}$, так что предположение «свободных электронов» часто является достаточно хорошим приближением. Модуль упругости Y_m также возрастает с ростом электронной плотности, как показано в вышеприведенном уравнении для E_p , так как модуль объемного сжатия, который напрямую связан с модулем упругости, пропорционален корню квадратному из n [26]. После принятия ряда допущений выражение модуля упругости приобретает вид

$$Y_m = 25,32(1 - 2\nu) \left(\frac{me}{h^2} \right) E_F^{\text{с}},$$

где ν — коэффициент Пуассона.

2.5. Исследование межфазной области

Для полиароматических твердых веществ с sp^2 -гибридизацией область низких потерь характеризуется двумя главными пиками плазмона, которые соответствуют возбуждению π - и $(\pi + \sigma)$ -электронов. Результаты, представленные здесь, акцентированы на значения E_p для пика объемного плазмона, т. е. пика, отнесенного к $(\pi + \sigma)$ -электронам (рис. 2.14).

Далее приведены только те значения пиков плазмонов, которые соответствуют возбуждению $(\pi + \sigma)$ -электронов. На рисунках 2.12 и 2.13 отчетливо видны изменения в структурных градиентах при удалении от межфазной области, исчезающие при удалении от поверхности нановолокон. Измерения E_p методом СХПЭЭ проводились в разных местах образца на глубине до 200 нм через каждые 20 нм. Для каждой точки

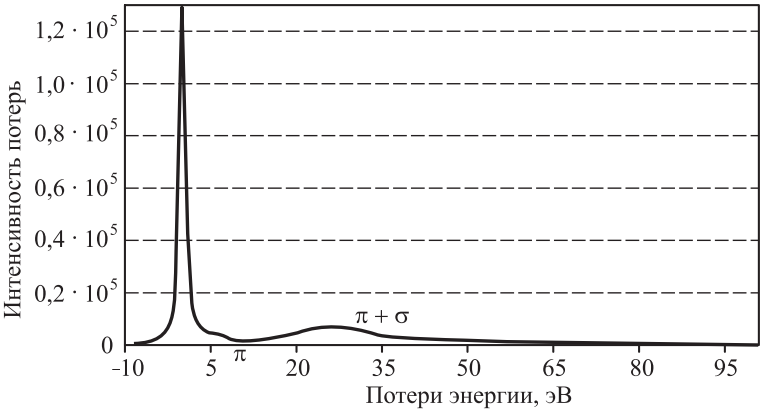


Рис. 2.14. Спектр потерь энергии электрона для полиароматического твердого тела

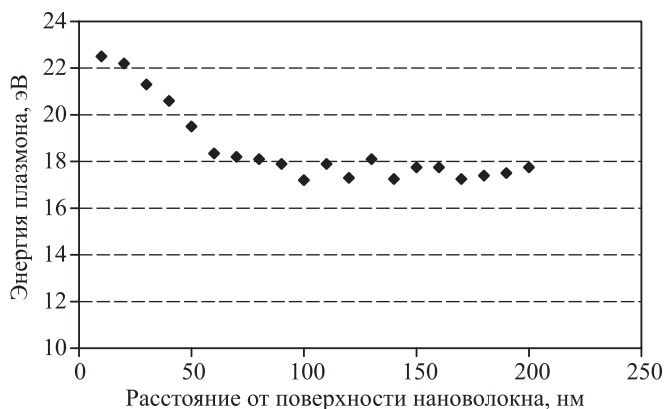


Рис. 2.15. СХПЭЭ-анализ нанокомпозитов с поверхностной функционализацией нановолокон

поверхности строились графики по среднему значению из 12 измерений (рис. 2.15). Было показано, что при увеличении расстояния от поверхности нановолокна E_p снижается. Принимая во внимание вышеприведенное уравнение, можно сделать вывод, что механические свойства нанокомпозитов (модули сжатия, упругости и сдвига границ раздела и межфазы) намного выше, чем свойства исходного полимера.

Для описания поведения нанокомпозитов при течении были получены численные модели, предсказывающие потенциал новых нанокомпозитов [32, 33]. Динамическое поведение расплавов (растворов) нанокомпозитов имеет свои особенности. Присутствие наночастиц может привести к потере давления при течении через каналы [34]. Проблема закупорки микрометрических каналов особенно важна при литьевом прессовании пластмасс и других методах переработки композитов из-за высокой вязкости полимерных расплавов и низкой проницаемости форм. Предсказание течения мультифазной системы трудно поддается моделированию [35, 36]. Непрерывная фаза (жидкость) и дисперсная фаза (твердое тело) могут быть описаны моделью Эйлера. В случае литьевого прессования для исследования и предсказания характеристик течения предложена двумерная модель, основанная на мультифазном подходе Эйлера для течения нанокомпозитов через углеродный микроволоконистый каркас.

Двумерную матрицу из углеродных микроволокон пропитывают нанокомпозитом (рис. 2.16, *а*). На рисунке 2.16, *б* показана репрезентативная единичная ячейка для этого случая. Из-за симметричности берется только по половине от каждого из двух соседних микроволокон и полностью — третье микро волокно, расположенное ниже. Вывод уравнений сохранения основан на принципе аддитивности [37–42].

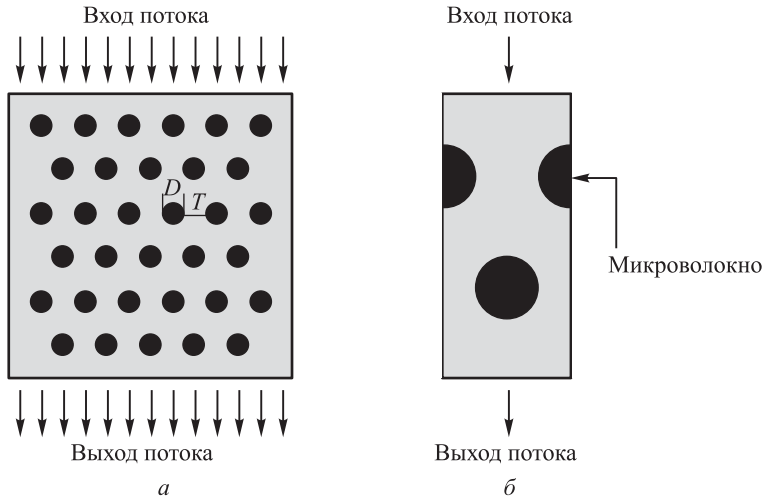


Рис. 2.16. Конфигурация матрицы из углеродных микроволокон (а) и модель единичной ячейки (б)

Предсказанные сеточные числа Рейнольдса для течения чистой смолы показаны на рисунке 2.17, а. Видно, что минимальными числами Рейнольдса характеризуются области, прилегающие к стенкам

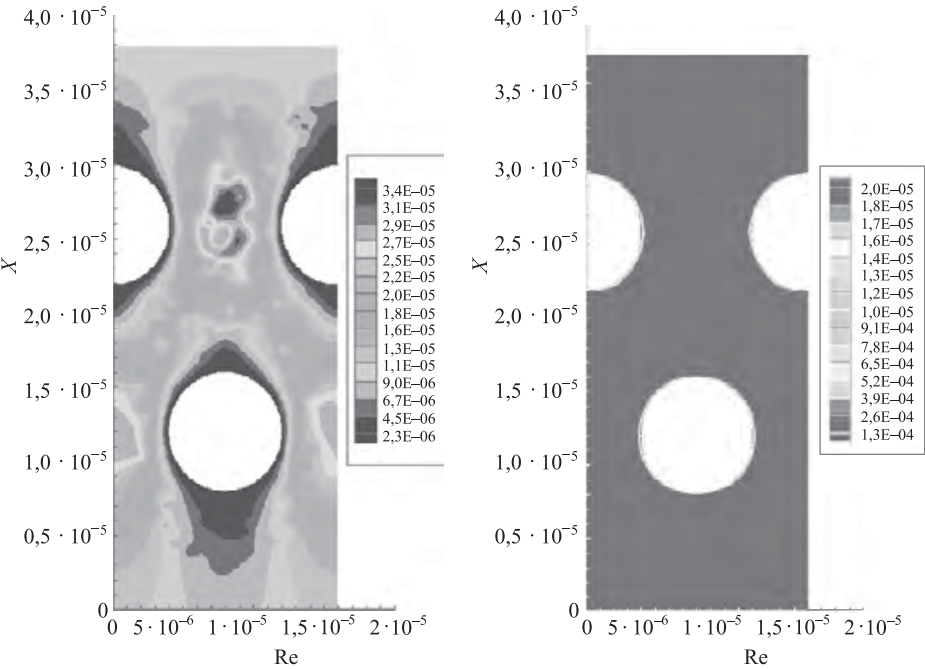


Рис. 2.17. Сеточные числа Рейнольдса (слева) и контуры напряжения сдвига для чистого связующего (справа)

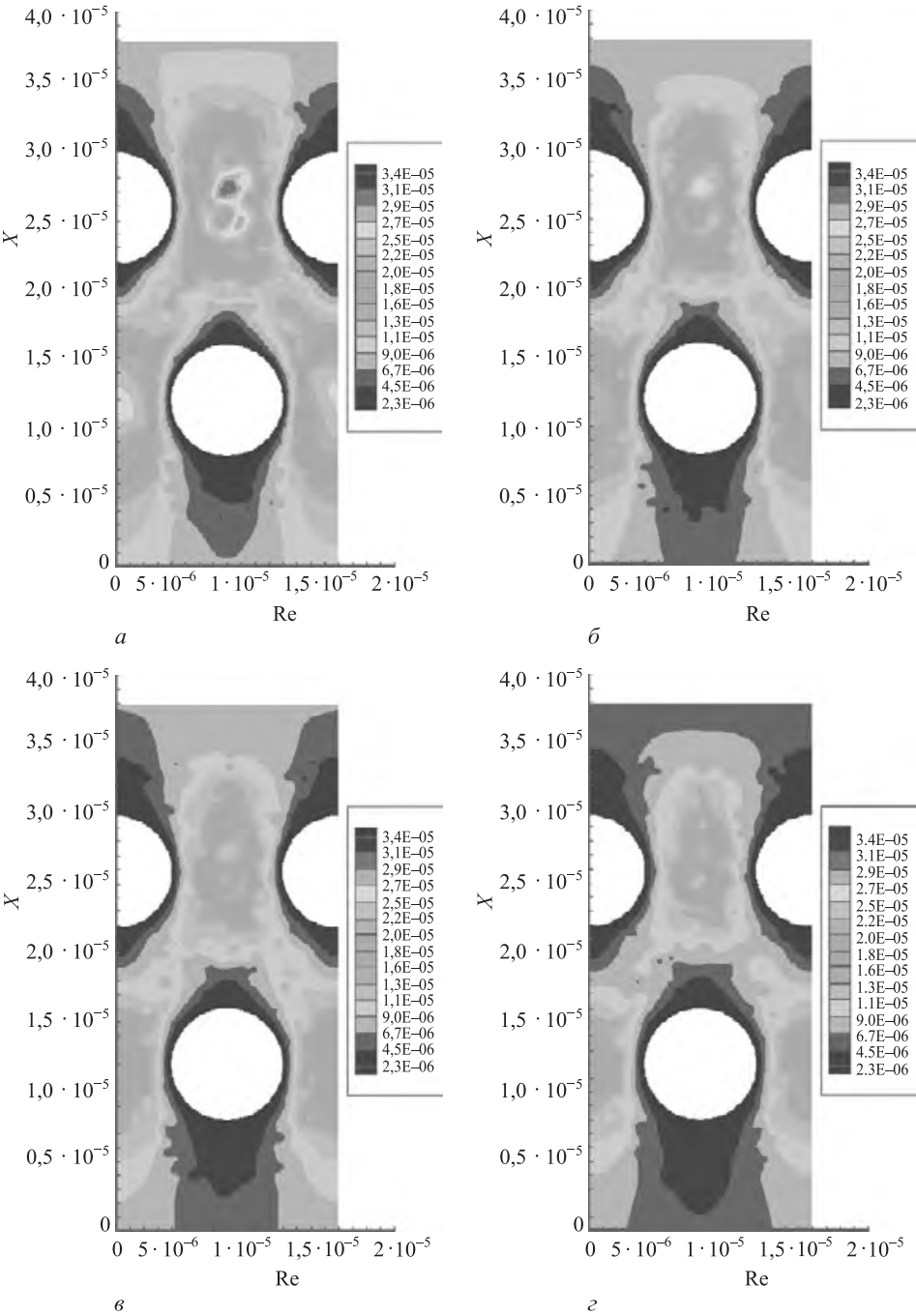


Рис. 2.18. Сеточные числа Рейнольдса для различных степеней наполнения (объемная доля частиц): *a* — 0,5%, *б* — 1%, *в* — 1,5%, *г* — 2,0%

микроволокон как результат значительного трения. Трение постепенно уменьшается по направлению к центру ячейки в радиальном направлении от соседних микроволокон, так же как и взаимодействие между стенками микроволоконками и жидкостью вокруг третьего волокна. Аналогично, напряжение сдвига намного выше на интерфейсе микроволоконно/жидкость (рис. 2.17, б). Сдвиговое напряжение на стенке оценивалось при толщине 0,6 мкм.

Если объемную долю углеродных частиц в смоле увеличить, сеточное число Рейнольдса уменьшится (рис. 2.18). Эта тенденция может быть объяснена возрастанием эффективной вязкости нанокомпозитов. Аналогично, напряжение сдвига на стенке возрастает при увеличении степени наполнения (рис. 2.19). Соотношение между коэффициентом загрузки и максимальным напряжением на стенках микроволокон для всех изученных образцов иллюстрирует рисунок 2.20, демонстрирующий квадратичную зависимость между ними.

Как и ожидалось, при течении слоя жидкости вблизи стенок микроволокон будут испытывать высокое трение. Это трение снизит скорость течения (прилипание жидкости к стенкам микроволокон) и, возможно, через некоторое время течение совсем прекратится. Для предотвращения потенциального прилипания соседних слоев жидкости может быть применен прием нарушения энергетического баланса между стенками микроволокон и жидкостью. Поверхностное напряжение, вызванное изменением температуры, будет вносить вклад в термокапиллярное тече-

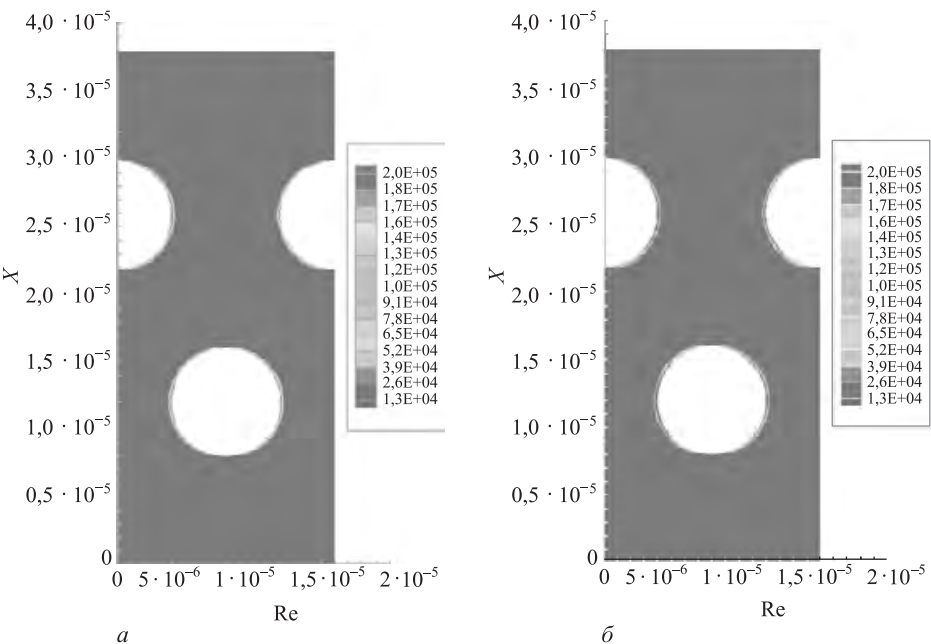


Рис. 2.19. Контуры напряжения на стенках для разных степеней наполнения: а — 0,5%, б — 2%

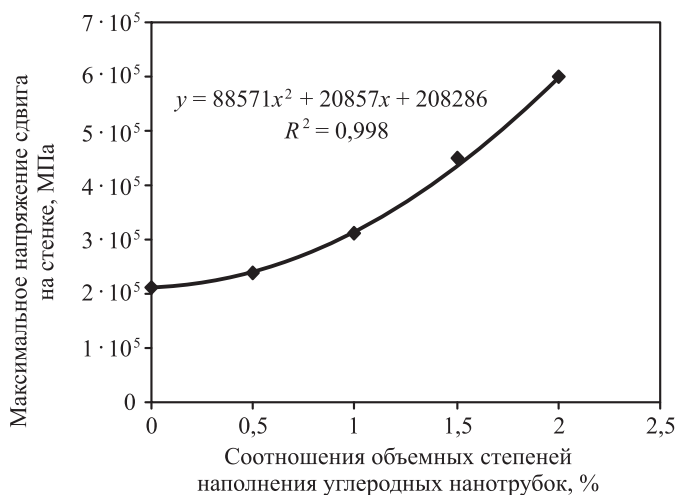


Рис. 2.20. Зависимость максимального напряжения сдвига на стенках от объемной степени наполнения

ние внутри слоя жидкости [43]. Термокапиллярные эффекты приведут к появлению различных независимых от гравитации явлений, включая появление конвективных потоков, искривление интерфейса, вплоть до его разрыва. Термокапиллярные потоки возникают из-за наличия дисбаланса касательных напряжений в межфазной области вследствие температурной зависимости поверхностного натяжения [44]. Это касательное напряжение называется сдвиговым напряжением Марангони. Одновременное влияние поверхностного натяжения и градиента температур может привести к различным возможным откликам.

По результатам моделирования различных комбинаций температурного коэффициента поверхностного натяжения и разницы температур между потоком жидкости и стенками углеродных микроволокон было обнаружено, что скорость межфазных потоков вокруг микроволокон увеличивалась, когда эти параметры составляли 0,4 Н/(м·К) и 70 °С соответственно [45–47]. При таких параметрах межфаза более легко огибает микроволокна по сравнению с их течением до использования приема энергетического дисбаланса. Таким образом, вероятность прилипания уменьшается.

Рассчитанные сеточные числа Рейнольдса при течении материала с различной степенью наполнения после использования приема энергетического дисбаланса приведены на рисунке 2.21. Можно увидеть, что применение данной техники создает конвективные потоки вокруг стенок углеродных микроволокон, что вызывает образование вихрей вокруг них. Эти вихри заставляют поток двигаться по направлению от стенок углеродных микроволокон. Из рисунков также следует, что вихри усиливаются при малых содержаниях наночастиц, поэтому при более высоких степенях наполнения может потребоваться большая разница температур [45].

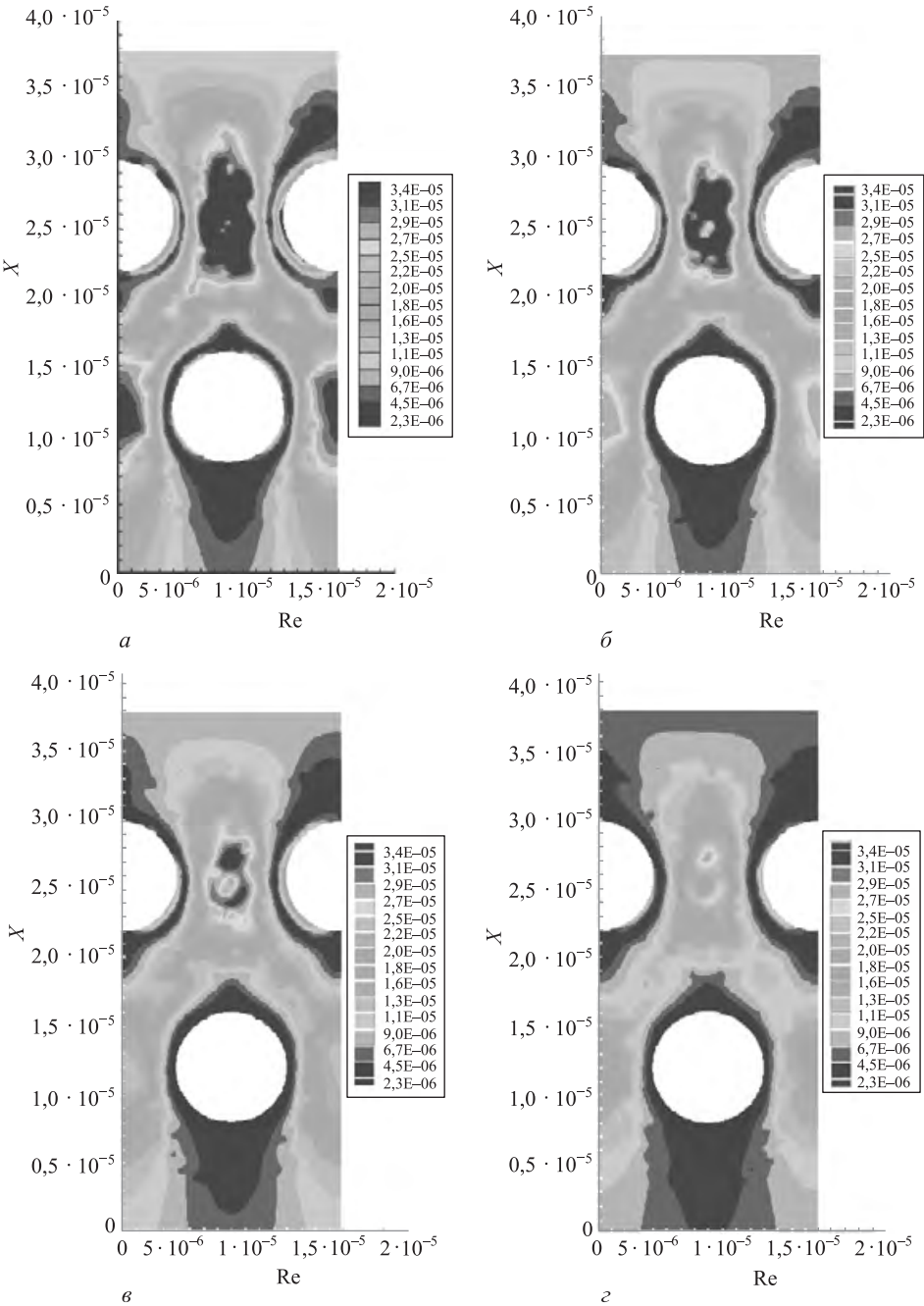


Рис. 2.21. Сеточные числа Рейнольдса после использования техники энергетического дисбаланса для разного содержания наночастиц: *a* — 0,5%, *б* — 1%, *в* — 1,5%, *г* — 2,0%

Углеродные нановолокна успешно вводят в эпоксидную смолу с целью улучшения ее физических свойств. Хорошая совместимость двух независимых фаз является главным фактором для создания превосходного углеродного нанокompозита. Получение матриц высокого качества — залог успеха разработки композитов нового поколения. Нановолокна позволяют улучшить термические, электрические и механические свойства исходной смолы. При необходимости усиления термической или электрической проводимости вводимые нановолокна могут быть обработаны термически; после такой обработки внутри нановолокон образуются графеновые области, позволяющие достигать более высокой степени упорядоченности. Функционализация поверхности углеродных нановолокон неблагоприятно влияет на их термические и электрические свойства.

Наличие химических функциональных групп на поверхности углеродных нановолокон позволяет осуществить физическое и химическое связывание с полимерной матрицей, благоприятно сказываясь на механических свойствах углеродных нанокompозитов. Химическое взаимодействие с непрерывной фазой эпоксидной смолы приводит к образованию третьей независимой фазы. Эта область внутри нанокompозита называется «межфазной», и она должна глубоко изучаться. Благодаря химическому и физическому связыванию поверхностно функционализированные нановолокна становятся инкапсулированными, при этом передача энергии ближайшим углеродным нановолокнам исключается.

Главная цель получения композитов — достижение максимальной прочности при минимальной массе материала. Добавление углеродных нановолокон, имеющих низкую плотность, к эпоксидной смоле позволяет улучшить ее механические свойства без увеличения веса. При воздействии механической нагрузки напряжение в нанокompозите в первую очередь начинает испытывать непрерывная фаза (эпоксидная матрица). При хорошем взаимодействии между двумя фазами нагрузка передается на дисперсную нановолокнистую фазу, имеющую отличные механические характеристики. Эффективная передача нагрузки между двумя фазами достигается в нанокompозитах, содержащих наполнители с функционализированной поверхностью и, в меньшей степени, пиролитически очищенные наноапполнители. Термически обработанные нановолокна лишены своих функциональных групп, и несмотря на то что механические свойства нановолокон при термообработке улучшаются, их способность к взаимодействию с непрерывной полимерной фазой становится хуже. Поэтому механические свойства нанокompозитов с термически обработанными волокнами оказываются хуже, чем свойства нанокompозитов с пиролитически очищенными или функционализированными нановолокнами. При постепенном увеличении содержания нановолокон свойства нанокompозитов (термические, электрические и механические) улучшаются. Но в какой-то момент дальнейшее добавление нановолокон начинает отрицательно сказываться на свойствах нанокompозита из-за невозможности обеспечения гомогенности нанокompозита. Благодаря применению неразрушающих

методов, можно сделать вывод, что полученные корреляции между экспериментальным и рассчитанным средним модулем упругости и пиком энергии плазмона полезны для определения локальных модулей упругости технологически важных материалов. Дальнейшее исследование интерфейсов позволит получить информацию, относящуюся к реакционной способности смолы по отношению к определенным функциональным группам, что даст возможность создавать наноккомпозиты с более предсказуемыми свойствами.

Изучение течения наноккомпозитов через микроволокнистую матрицу позволило доказать наличие взаимодействия между боковыми стенками микроволокон и межфазными слоями жидкости. Эти взаимодействия приводят к снижению скорости течения жидкости, вызывая эффекты прилипания жидкости к боковым стенкам нановолокон. Через некоторое время течение может быть полностью остановлено. Для решения этой проблемы разработана техника нарушения энергетического баланса между стенками микроволокон и жидкостью. Возникающие при этом конвективные потоки вблизи стенок углеродных микроволокон вызывают образование вихрей в течении. Силы, возникающие в результате действия этих вихрей, обуславливают движение потока по направлению от стенок микроволокон, предотвращая прилипание межфазных слоев жидкости к стенкам микроволокон [45–47].

Литература

1. Sittig, Marshall, ed., *Carbon and Graphite Fibers*, Noyes Data Corporation, 1980.
2. Strong, A. Brent, *Fundamentals of Composites Manufacturing: Materials, Methods, and Applications*, Society of Manufacturing Engineers, Michigan, 1989.
3. Iijima, S., "Helical Microtubules of Graphitic Carbon," *Nature*, 354 (7), pp. 56–58, 1991.
4. Saito, R. et al., *Physical Properties of Carbon Nanotubes*, Imperial College Press, Singapore, 1998.
5. Lafdi, Khalid, "Carbon Nanotechnology," Winter 2003, University of Dayton, Ohio.
6. Callister, W.D. Jr., *Materials Science and Engineering: An Introduction*, John Wiley & Sons, New York, 2000.
7. Thostenson, E. et al., "Advances in the Science and Technology of Carbon Nanotubes and Their Composites: A Review," *Composites Science and Technology*, 61, pp. 1899–1912, 2001.
8. Endo, M., Kim, Y.A., Hayashi, T., Yanagisawa, T., Muramatsu, H., Ezaka, M., Terrones, H., Terrones, M., and Dresselhaus, M.S., "Microstructural Changes Induced in Stacked-Cup Carbon Nanofibers by Heat Treatment." *Carbon*, 41, pp. 1941–1947, 2003.

9. Lim, S., Yoon, S.-H., Mochida, I., and Chi, J.-H., "Surface Modification of Carbon Nanofiber with High Degree of Graphitization," *Journal of Physical Chemistry B*, 108, pp. 1533–1536, 2004.
10. Katayama, T., Araki, H., and Yoshino, K., "Multiwalled Carbon Nanotubes with Bamboo-Like Structure and Effects of Heat Treatment," *Journal of Applied Physics*, 91 (10), pp. 6675–6678, 2002.
11. Kiselev, N.A., Sloan, J., Zakharov, D.N., Kukovitskii, E.F., Hutchinson, J.L., Hammer, J., and Kotosonov, A.S., "Carbon Nanotubes from Polyethylene Precursors: Structure and Structural Changes Caused by Thermal and Chemical Treatment Revealed by HREM," *Carbon*, 36, pp. 1149–1157, 1998.
12. Xu, J., Donohoe, J.P., and Pittman, Jr., C.U., "Preparation, Electrical and Mechanical Properties of Vapor Grown Carbon Fiber (VGCF)/Vinyl Ester Composites," *Composites Part A*, 35, pp. 693–701, 2004.
13. Finegan, I.C., Tibbetts, G.G., Glasgow, D.G., Ting, J.-M., and Lake, M.L., "Surface Treatments for Improving the Mechanical Properties of Carbon Nanofiber/Thermoplastic Composites," *Journal of Materials Science*, 38, pp. 3485–3490, 2003.
14. Kuriger, R.J., Alam, M.K., Anderson, D.P., and Jacobsen, R.L., "Processing and Characterization of Aligned Vapor Grown Carbon Fiber Reinforced Polypropylene," *Composites Part A*, 33, pp. 53–62, 2002.
15. Ma, H., Zeng, J., Realff, M.L., Kumar, S., and Schiraldi, D.A., "Processing, Structure, and Properties of Fibers from Polyester/Carbon Nanofiber Composites," *Composites Science and Technology*, 63, pp. 1617–1628, 2003.
16. Matzek, M.D., "Polymeric Carbon Nanocomposites: Physical Properties and Osteoblast Adhesion Studies." Master's thesis, University of Dayton, Ohio, 2004.
17. Toebe, Marjolein L., et al., "Impact of the Structure and Reactivity of Nickel Particles on the Catalytic Growth of Carbon Nanofibers," *Catalysis Today*, 76, pp. 33–42, 2002.
18. Bubert, H., Ai, X., Haiber, S., Heintze, M., Brueser, V., Pasch, E., Brandl, W., and Marginean, G., "Basic Analytical Investigation of Plasma-Chemically Modified Carbon Fibers," *Spectrochimica Acta Part B*, 57, pp. 1601–1610, 2002.
19. Xu, J., Donohoe, J.P., and Pittman, Jr., C.U., "Preparation, Electrical and Mechanical Properties of Vapor Grown Carbon Fiber (VGCF)/Vinyl Ester Composites," *Composites Part A*, 35, pp. 693–701, 2004.
20. Cortes, P., Lozano, K., Barrera, E.V., and Bonilla-Rios, J., "Effects of Nanofiber Treatments on the Properties of Vapor-Grown Carbon Fiber Reinforced Polymer Composites," *Journal of Applied Polymer Science*, 89, pp. 2527–2534, 2003.
21. Harvey, J., Kozlowski, C., and Sherwood, P.M.A., "X-ray Photoelectron Spectroscopic Studies of Carbon Fibre Surfaces," *Journal of Materials Science*, 22, pp. 1585–1596, 1987.

22. Gulyas, J., Foldes, E., Lazar, A., and Pukanszky, B., "Electrochemical Oxidation of Carbon Fibres: Surface Chemistry and Adhesion," *Composites Part A*, 32, pp. 353–360, 2001.
23. Yue, Z.R., Jiang, W., Wang, L., Gardner, S.D., and Pittman, Jr., C.U., "Surface Characterization of Electrochemically Oxidized Carbon Fibers," *Carbon*, 37, pp. 785–1796, 1999.
24. Lafdi, K., Fox, W., Matzek, M., and Yildiz, E., "Effect of Carbon Nanofiber-Matrix Adhesion on Polymeric Nanocomposite Properties (Part II)," *Journal of Nanomaterials*, 2008.
25. Oleshko, V. et al., "Electron Microscopy and Scanning Microanalysis," *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Wiley & Sons, Chichester, UK, pp. 9088–9120, 2000.
26. Gilman, J.J., "Plasmons at Shock Fronts," *Phil Mag B*, 79, pp. 643–654, 1999.
27. Thomas, G., *Transmission Electron Microscopy of Metals*, Wiley, New York, 1962.
28. Thomas, G., "The Impact of Electron Microscopy on Materials Research. Microstructural Design and Tailoring of Advanced Materials." In *Impact of Electron and Scanning Probe Microscopy on Materials Research*, Rickerby, D.G., Valdre, G., and Valdre, U., Eds., pp. 1–40. Wiley, New York, 1998.
29. Thomas, G., and Goringe, M.J., *Transmission Electron Microscopy of Materials*, Wiley, New York, 1979.
30. Egerton, R.F., *Electron Energy Loss Spectroscopy in the Electron Microscope*, 2nd edition, Plenum Press, New York, 1996.
31. Raether, H., *Excitation of Plasmons and Interband Transitions by Electrons*, Springer Tracts in Modern Physics, 88, Springer-Verlag, Berlin, 1980.
32. Yang, R., and Chen, G., "Thermal Conductivity Modeling of Periodic Two-Dimensional Nanocomposites," *Physical Review B*, 69, 195316, pp. 1–10, 2004.
33. Valavala, K., and Odegard, M., "Modeling Techniques for Determination of Mechanical Properties of Polymer Nanocomposites," *Reviews on Advanced Materials Science*, 9, pp. 34–44, 2005.
34. Khanafer, K., Vafai, K., and Lightstone, M., "Buoyancy-Driven Heat Transfer Enhancement in a Two-Dimensional Enclosure Utilizing Nanofluids," *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 46, pp. 3639–3653, 2003.
35. Kleinstreuer, C., *Two-Phase Flow*, Taylor & Frances, New York, 2003.
36. Wachem, B., and Almstedt, A., "Methods for Multiphase Computational Fluid Dynamics," *Chemical Engineering Journal*, 96, pp. 81–98, 2003.
37. Bowen, M., *Theory of Mixtures*, Academic Press, New York, 1976.
38. Gidaspow, D., *Multiphase Flow and Fluidization: Continuum and Kinetic Theory Descriptions*, Academic Press, San Diego, CA, 1994.

39. Ding, J., and Gidaspow, D., "A Bubbling Fluidization Model Using Kinetic Theory of Granular Flow," *American Institute of Chemical Engineers Journal*, 36, pp. 523–538, 1990.
40. Drew, D., and Lahey, R., *Particulate Two-Phase Flow*, Butterworth-Heinemann, Boston, MA, 1993.
41. Vasquez, S., and Ivanov, V., "A Phase Coupled Method for Solving Multiphase Problems on Unstructured Meshes." In *Proceedings of ASME FEDSM'00: ASME 2000 Fluids Engineering Division Summer Meeting*, Boston, MA, 2000.
42. Weiss, J., Maruszewski, J., and Smith, W., "Implicit Solution of Preconditioned Navier-Stokes Equations Using Algebraic Multigrid," *AIAA Journal*, 37, pp. 29–36, 1999.
43. Schwartz, L., "On the Asymptotic Analysis of Surface-Stress-Driven Thin-Layer Flow," *Journal of Engineering Mathematics*, 39, pp. 171–188, 2001.
44. Jiang, Y., and Floryan, J., "Effect of Heat Transfer at the Interface on Thermocapillary Convection in Adjacent Phase," *ASME Journal of Heat Transfer*, 125, pp. 190–194, 2003.
45. Elgafy, A., and Lafdi, K., "Engineering Solution in Monitoring Nanoparticle-Fluid Flow during Nanocomposites Processing," *Journal of Nanoparticle Research*, 9 (3), pp. 441–454, 2007.
46. Elgafy, A., and Lafdi, K., "Carbon Nanofluids Flow Behavior in Novel Composites," *Journal of Microfluidic Nanofluidic*, 2 (5), pp. 425–433, 2006.
47. Elgafy, A., and Lafdi, K., "Carbon Nanoparticle-Filled Polymer Flow in the Fabrication of Novel Fiber Composites," *Carbon*, 44 (9, August), pp. 1682–1689, 2006.

РЕОЛОГИЯ НАНОКОМПОЗИТОВ ПОЛИМЕР/ГЛИНА: РАЗВИТИЕ МЕЗОМАСШТАБНОЙ СТРУКТУРЫ И ДИНАМИКА МЯГКИХ СТЕКОЛ

Масами Окамото

Технологический институт «Тойота», Япония

3.1. Введение

Последние несколько лет направление использования неорганических наноразмерных частиц в качестве наполнителей полимеров интенсивно развивается. Особый интерес представляет технология получения нанокомпозиов, состоящих из полимера и органически модифицированного слоистого наполнителя (органоглины), так как эти материалы часто демонстрируют улучшенные свойства по сравнению с немодифицированными полимерами или обычными композитами (микро-/макрокомпозиатами) [1–6], причем достигаемый эффект намного выше того, что обычно может быть получен в случае микро-/макрокомпозиов.

Стратегия молекулярного дизайна впервые была применена в запросах фирмы Тойота для найлона-6 [7]. Рассматриваемый в этой главе класс материалов сегодня применяют для специальных целей, например из этих материалов изготавливают газонепроницаемую пленку, изделия, воспринимающие нагрузку [5]. Нанокомпозиов полимер/глина (ПГл) и самоорганизация в них с недавних пор используются для получения наноразмерных полимерных материалов [1–6]. Эти нанокомпозиов также были предложены в качестве модельных систем для исследования структуры и динамики полимеров в ограниченной по объему среде [8–10].

Для оценки перерабатываемости композиов необходимо детально понять реологическое поведение материалов в расплавленном состоянии. Эти знание, касающиеся расплавов ПГл, также важны для понимания соотношений структура–свойство. Хотя оценка реологических свойств является все же косвенным исследованием, данный подход хорошо развит для оценки взаимодействия между нанонаполнителем и полимерной матрицей и изменения структуры во времени. А путем комбинирования рентгеновского анализа, просвечивающей и электронной микроскопии может быть достигнуто еще более ясное понимание изменения структуры — на нано- и мезомасштабном уровнях.

Исходная мезомасштабная структура ПГл состоит из разориентированных расщепленных слоев, или тактоидов. Этот неупорядоченно распределенный нанонаполнитель формирует структуру типа сетки,

образованную взаимодействиями полимерных макромолекул и слоев органоглины, которая и ответственна за линейный вязкоупругий отклик, наблюдаемый в расплавах ПГл. Такая структура, которой свойственно разупорядоченное метастабильное состояние и неравновесность и которая имеет аналогию с мягкими коллоидными стеклами и гелями, в последнее время интенсивно обсуждается [11, 13–27].

В этой главе приведен обзор исследований, посвященных изучению мезоструктуры в расплавах ПГл. Особое внимание уделяется рассмотрению поведения систем при течении; прослеживается аналогия с динамикой мягких стекол [12].

3.2. Линейные вязкоупругие свойства

Динамические сдвиговые эксперименты полимерных материалов обычно проводятся путем приложения к образцу зависящих от времени деформации $\gamma(t) = \gamma_0 \sin(\omega t)$ и результирующего напряжения сдвига $\sigma(t) = \gamma_0 [G' \sin(\omega t) + G'' \cos(\omega t)]$, где G' и G'' — модуль упругости и модуль потерь соответственно.

Обычно реологические свойства расплавов полимеров сильно зависят от температуры, при которой проводятся измерения. Известно, что для упрощения изотермы модуль упругости G' , модуль потерь G'' и комплексная вязкость $|\eta^*|(\omega)$ могут быть приведены к суперпозиции сдвигом вдоль оси частоты:

$$b_T G'(a_T \omega, T_{\text{прив}}) = b_T G'(\omega, T),$$

$$b_T G''(a_T \omega, T_{\text{прив}}) = b_T G''(\omega, T),$$

$$|\eta^*|(a_T \omega, T_{\text{прив}}) = |\eta^*|(\omega, T),$$

где a_T и b_T — частотный и вертикальный факторы сдвига соответственно; $T_{\text{прив}}$ — приведенная температура. Такой прием позволяет совместить на одной частотной шкале все изотермы, полученные для чистого полимера и различных ПГл.

В случае образцов полимера предполагается, что при температурах и частотах проведения реологических измерений полимерные цепи полностью отрелаксированы и проявляют характерную для гомополимера текучесть (кривые могут быть описаны законами $G'(\omega) \propto \omega^2$ и $G''(\omega) \propto \omega$).

Реологические свойства полимеризованных *in situ* нанокомпозитов со связанными концами полимерных цепей впервые были описаны Криснамоорти и Джияннелиз [13]. Текучесть нанокомпозитов на основе поли-ε-капролактона (ПКЛ) и полиамида-6 существенно отличалась от поведения соответствующих матриц, а между тем термореологические свойства нанокомпозитов должны полностью определяться свойствами матриц [13]. Наклоны $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ как функций от $a_T \omega$ намного меньше, чем 2 и 1 соответственно (2 и 1 — значения, характерные для линейного монодисперсного полимера). Наблюдаемые отличия особенно заметны в присутствии малых количеств слоистых силикатов, что

может быть обусловлено образованием сетчатой структуры в расплаве. Однако нанокомпозиты, полученные на основе технологии полимеризации *in situ*, имеют достаточно широкое молекулярно-массовое распределение (ММР) полимера-матрицы, что затрудняет однозначное объяснение.

Динамические свойства при сдвиге изучали для различных видов ПГл широкого диапазона матриц, включая полиамид-6 различной молекулярной массы [14], полистирол (ПС) [15], блок-сополимеры полистирол–полиизопрен (ПИ) [16, 17], ПКЛ [18], полипропилен (ПП) [11, 19–22], полилактид [23, 24] и полибутилен сукцинад [25, 26]. У всех нанокомпозитов при линейном вязкоупругом воздействии наблюдались большие изменения в низкочастотном режиме — от жидкоподобного до твердообразного отклика ($G'(\omega) \sim G''(\omega) \propto \omega^0$), что объяснялось образованием по всему объему мезомасштабной сетки из органоглины при превышении предела механической перколяции [22]. Реологические свойства при низкочастотных воздействиях сильно зависят от содержания органоглины и степени расслоения/интеркаляции в полимерной матрице.

Типичные примеры обобщенных кривых динамической вязкоупругости для полилактида и различных нанокомпозитов с органоглиной на его основе [24] показаны на рисунке 3.1. Обобщенные динамические вязкоупругие кривые были получены при использовании принципа суперпозиции время–температура и приведены к одной температуре ($T_{\text{прив}}$) с применением как частотного фактора сдвига a_T , так и фактора сдвига модуля b_T . Модуль нанокомпозитов возрастает с увеличением содержания глины при всех частотах ω . При высоких частотах поведение $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ одинаково и не зависит от частоты. Однако при низких частотах $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ монотонно возрастают при увеличении содержания органоглины. В области низких частот кривые могут быть описаны законами $G'(\omega) \sim \omega^2$ и $G''(\omega) \propto \omega$ для чистого полилактида, и можно предположить, что их поведение аналогично поведению расплавов гомополимеров с узким ММР. В то же время при $a_T < 5 \text{ рад} \cdot \text{с}^{-1}$ вязкоупругий отклик (особенно $G'(\omega)$) для всех нанокомпозитов проявляет значительно меньшую зависимость от частоты, чем это характерно для матриц. У всех нанокомпозитов на основе полилактида $G'(\omega)$ превышает $G''(\omega)$, что является характерной чертой материалов, демонстрирующих псевдо-твердообразное поведение. В таблице 3.1 представлены наклоны конечной части кривых для полилактида и нанокомпозитов на его основе, определенные в области низких значений a_T ($< 10 \text{ рад} \cdot \text{с}^{-1}$). Низкие значения наклона и более высокие значения абсолютных величин динамического модуля указывают на образование в расплаве нанокомпозитов сетки органоглины [16, 24]. Наличие этой мезоразмерной структуры частично подтверждается наблюдениями при помощи просвечивающей электронной микроскопии [24]. Корреляционная длина между частицами глины ($\xi_{\text{гд}}$) меньше, чем средняя длина частицы ($L_{\text{гд}}$) для нанокомпозитов, поэтому можно предположить появление значительных пространственных ограничений.

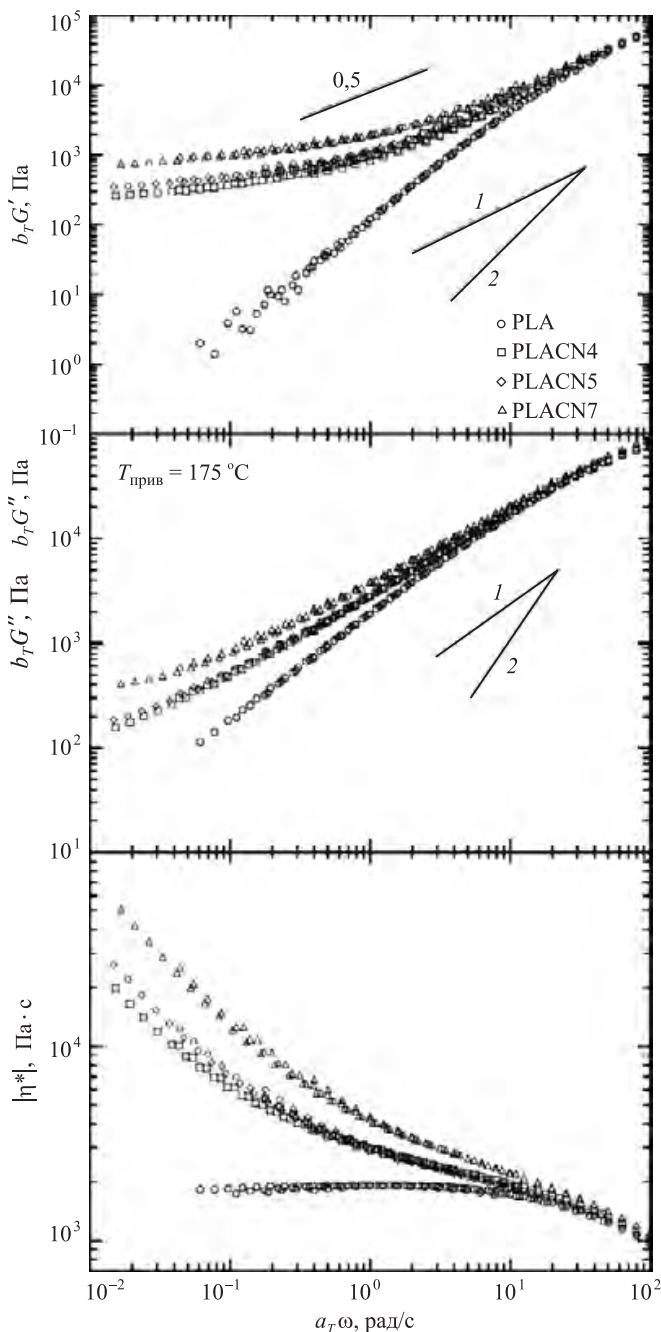


Рис. 3.1. Нормированная зависимость модуля упругости, модуля потерь и комплексной вязкости от частоты полилактида (PLA) и различных нанокомпозитов на его основе (PLACN) при динамических сдвиговых измерениях. Взято с разрешения из [24]. Copyright 2003, Elsevier Science

Таблица 3.1

Наклон кривых G' и G'' в низкочастотной области
в зависимости от a, ω для полилактида и нанокомпозитов на его основе

Система	Органо-глина, % (масс.)	G'	G''	E_a , кДж/моль*
Полилактид	0	1,6	0,9	170 ± 5
Нанокомпозит на основе полилактида PLACN4	4	0,2	0,5	225 ± 10
Нанокомпозит на основе полилактида PLACN5	5	0,18	0,4	225 ± 5
Нанокомпозит на основе полилактида PLACN7	7	0,17	0,32	230 ± 8

* Энергия активации течения рассчитана методом Аррениуса.
Данные взяты из [24] с разрешения Elsevier Science.

Правдоподобные объяснения и их модель (рис. 3.2) предложены в работе [16]. Одиночные или сложенные вместе слои глины не могут свободно вращаться, следовательно, при низких резонансных частотах релаксация структуры почти полностью исключена. Такой тип ограниченной релаксации приводит к появлению мезоразмерной сетки, охватывающей весь объем вещества. Эффективный объем, занятый пластинами глины, намного превышает рассчитанный только по их размерам.

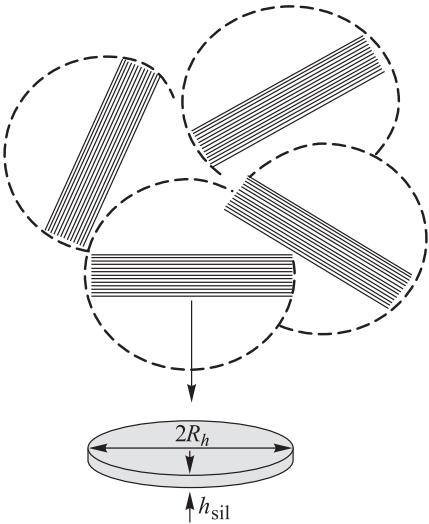


Рис. 3.2. Перколяция гидродинамического объема силикатных слоев при низкой концентрации частиц. Сложение силикатных слоев и их взаимодействие друг с другом приводят к полной релаксации расплавов нанокомпозитов. Взято с разрешения Американского химического общества из [16]

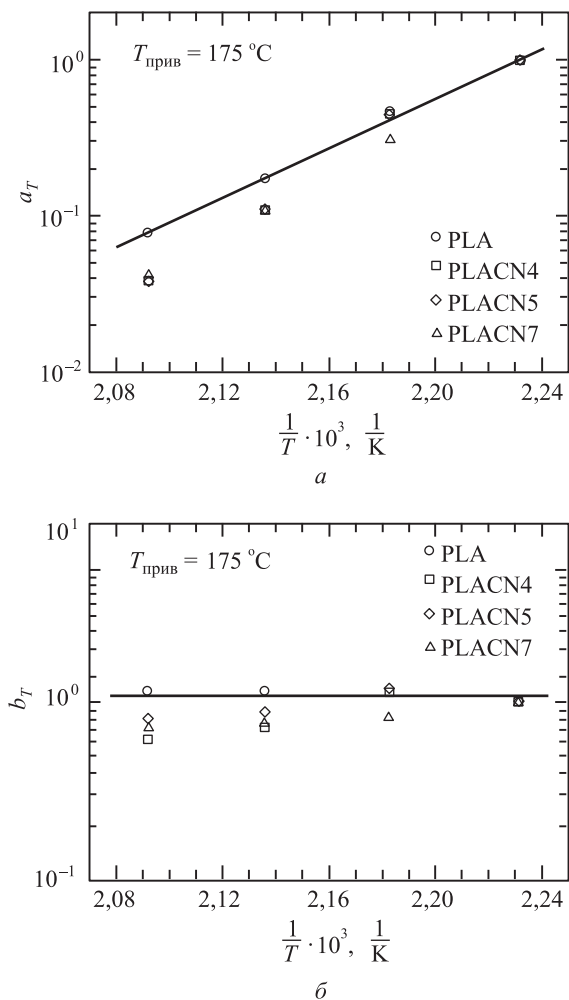


Рис. 3.3. Частотный фактор сдвига (a) и фактор сдвига модуля (b) как функция температуры. Взято с разрешения из [24]. Copyright 2003, Elsevier Science

К тому же во всех нанокомпозитах наблюдалось поведение, характерное для твердообразных тел, несмотря на тот факт, что термодинамическое взаимодействие между различными полимерами и органоглиной сильно различается [11, 13–27]. Отметим также, в работе [28] найдена корреляция между реологическим откликом и степенью интеркаляции. Проникновение полимерных цепей в пространство между слоями глины напрямую связано с реологическими свойствами и сказывается на повышении модуля.

Температурная зависимость частотного фактора сдвига (a_T в уравнении Вильямса–Ленделла–Ферри [29]), использованная для построения обобщенных кривых (рис. 3.1), представлена на рисунке 3.3.

Зависимость частотного фактора сдвига от содержания силикатов позволяет предположить, что на температурозависимый релаксационный процесс, наблюдаемый при измерениях в высокоэластическом состоянии, влияет присутствие силикатных слоев (225 кДж/моль для PLACN4 и 170 кДж/моль для чистого полилактида, см. табл. 3.1). Для нанокомпозитов на основе полиамида-6, у которых между полимером и поверхностью силикатов формируются водородные связи [30], обнаружена высокая энергия активации, почти на порядок превышающая значение энергии для чистого полиамида-6 (450 кДж/моль и 1900 кДж/моль для нанокомпозитов на основе полиамида-6 с содержанием глины 1,6 и 3,7%; 350 кДж/моль для чистого полиамида-6) (см. рис. 3.10) [31].

Фактор сдвига b_T демонстрирует большее отклонение, нежели может быть приписано простому эффекту изменения плотности; можно предположить, что величина фактора сдвига не будет сильно отклоняться от единицы ($b_T = \rho T / \rho_{\text{прив}} T_{\text{прив}}$, где ρ и $\rho_{\text{прив}}$ — плотности при T и $T_{\text{прив}}$) [29]. Единственное объяснение тому — изменение структуры сетки органоглины в процессе сдвига при измерениях. Восстановление сетки, вероятно, происходит в расплавах ПГЛ при низких скоростях сдвига (конечная часть кривых), приводя таким образом к увеличению абсолютных значений $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$.

Дальнейшему восстановлению доменов органоглины в мезофазной сетке также мешает простое броуновское движение. Ротационная диффузионная способность D_{r0} вращающегося круглого диска диаметром d ($d = L_{\text{гл}}/2$) определяется по формуле [32, 33]

$$D_{r0} = \frac{3k_B T}{4\eta_0 d^3}, \quad (3.1)$$

где η_0 — вязкость полимера-матрицы; k_B — постоянная Больцмана; T — температура. Время вращательной релаксации t_D описывается уравнением

$$t_D = \frac{(\pi/2)^2}{D_{r0}}. \quad (3.2)$$

Вращательная релаксация завершается за четверть периода. Этот параметр полезен при обсуждении реконструкции сетки в процессе вращения частиц органоглины по сопоставлению с временными рамками эксперимента. Для PLACN4 временной интервал вращательного броуновского движения составляет примерно $2 \cdot 10^3$ с при 175 °С. Эта величина больше, чем время эксперимента ($1/a_T \omega \sim 10^2$ с), поэтому можно предположить, что основной движущей силой эволюции структуры простая броуновская релаксация органоглин не является. Подробная аргументация реорганизации доменов органоглины с точки зрения вращательного броуновского движения представлена в ряде статей [11, 19, 33, 34].

Однако во многих интеркалированных нанокомпозитах (где полная эксфолиация невозможна) структура доменов органоглины организована из полимерных цепей, проникших в нанополости из сложенных

силикатных слоев, и самих слоев [35]. Также существуют и противоположные мнения, безотносительно к структуре интеркалированных нанокомпозитов, которые основаны на учете соотношения времен броуновской релаксации и экспериментальной релаксации [33]. В этой связи мы должны ясно представлять мезомасштабную структуру сетки.

С этой целью были исследованы изменение напряжения образцов нанокомпозитов после приложения к ним длительного колебательного сдвига большой деформации (КСБД) [19, 33] и отклик напряжения после начала воздействия постоянного сдвига или малоамплитудного колебательного сдвига (КСМД) [11, 22] в сравнении с изменением свойств нанокомпозитов сразу после их получения (без воздействия сдвига) и подвергнутых предварительному сдвигу (приводящему к параллельному выравниванию силикатных слоев).

3.3. Нелинейный сдвиговый отклик

Эксперименты после начала воздействия постоянного сдвига и КСМД позволяют изнутри оценить структурные изменения мезомасштабной сетки.

Соломон с соавторами проводили эксперименты по нелинейному изменению сдвигового течения с целью изучения кинетики разориентации после снятия напряжений с выровненных в потоке доменов органоглины в полипропиленовой матрице в период между циклами нагрузки [19]. Изменение напряжения на начальной стадии испытаний при постоянном сдвиге зависит от деформации (а не скорости сдвига) (рис. 3.4). Такой характер зависимости с переходным состоянием имеет не броуновский характер. Было показано, что разориентация происходит быстрее, чем предсказывается броуновским движением и сдви-

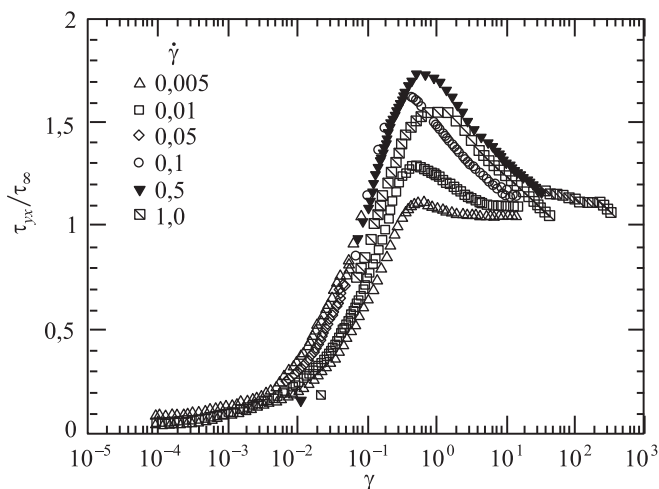


Рис. 3.4. Положение экстремума напряжения зависит от приложенной деформации. Образец — нанокомпозит на основе полипропилена, 180 °C. Взято с разрешения Американского химического общества из [19]

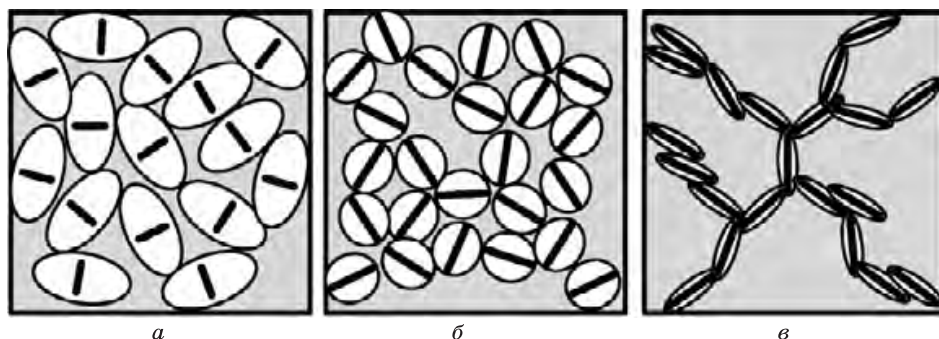


Рис. 3.5. Структуры, соответствующие отталкивающему коллоидному стеклу (*а*), притягивающему коллоидному стеклу (*б*) и гелю (*в*). Каждая толстая линия обозначает диск лапонита, белыми эллипсоидами указаны границы действия сил электростатического отталкивания. Для *а* преобладает электростатическое отталкивание. В *б* притяжение влияет на пространственное распределение, но отталкивание все еще играет основную роль в малодинамичной системе. Для *в* основную роль играет притяжение; образуется перколяционная сетка, которая придает системе эластичность. Взято с разрешения Американского химического общества из [36]

говым фактором — постоянной уравнения Вильямса–Ленделла–Ферри для полипропиленовой матрицы и нанокомпозитов. Был сделан вывод о том, что сильное притяжение между силикатными слоями приводит к быстрой разориентации системы после прекращения сдвига [19]. Также было высказано предположение, что сложенные силикатные слои в доменах органоглины образуют протяженную сетку благодаря ван-дер-ваальсову притяжению, причем эта структура, сформированная в отсутствие внешнего воздействия, легко разрушается при деформировании. После прекращения течения взаимодействия между частицами способствуют восстановлению сетки. Такая картина, когда сетка восстанавливается более полно с увеличением времени «отдыха», имеет место лишь на начальной стадии процесса, затем деформация приводит к необратимым изменениям структуры сетки и даже разрушению, что соответствует достижению предельных значений напряжения в экспериментах по обратимому течению [19].

Что касается возрастания вязкости, Трис с соавторами сообщали, что течение разрушает сетку органоглины в необработанных материалах и ориентирует домены соответственно степени деформации потока [11]. Морфология исходных и подвергнутых предварительному сдвигу образцов значительно меняется во время отжига. Сильная зависимость вязкости от времени отжига для исходных образцов свидетельствует о том, что они находятся в неравновесном состоянии [11, 28]. Такое поведение — старение — является характерным для микрогелей, паст, нематиков, водных дисперсий глин типа лапонита и т. п. Эти системы классифицируются как мягкие коллоидные стекла, и их состояние далеко от равновесия (рис. 3.5) [36].

3.4. Аналогия с мягкими коллоидами

Аналогия нанокомпозитов полимер/глина с динамикой мягких коллоидных стекол, демонстрирующих предел текучести, тиксотропию и медленную релаксацию напряжений при деформировании [12, 36], прослежена Реном с соавторами [33]. Стекло является гомогенной структурой, состоящей из разных частиц; эластичность такого материала зависит от эффекта «клетки», который характеризуется электростатическим отталкиванием на больших расстояниях и притяжением на малых [36]. В случае твердого коллоида модуль упругости и комплексная вязкость демонстрируют логарифмическую зависимость от времени, как и расплавы нанокомпозитов. Например, в водных дисперсиях лапонита структурная реорганизация, которая влияет на реологическое поведение, зависит от ионной силы, баланса сил притяжения и отталкивания между доменами глины.

В то же время гель также демонстрирует динамическое поведение мягких стекол, которое ассоциируется с метастабильной структурной гетерогенностью на мезомасштабном уровне, вызванной перколяцией бесконечной (по всему объему) сетки. Нанокомпозиты характеризуются структурной иерархией без отталкивания на большом расстоянии, но с силами притяжения на близком расстоянии (силы Ван-дер-Ваальса) благодаря модификации поверхности глины катионным интеркалятом. Поэтому расплавы нанокомпозитов классифицируются как притягивающиеся коллоидные гели [11]. Эту картину подтверждают экспериментальные результаты, свидетельствующие о переходном характере вязкости при очень низких значениях скоростей сдвига [22, 33].

3.5. Обратимость процесса образования сетки

Важнейшим этапом в изучении поведения расплавов нанокомпозитов является выявление взаимосвязи структуры с эластичностью. Образование сетки в нанокомпозите возможно уже при небольшом содержании органоглины — несколько процентов по массе. Кроме того, важно знать длительность процесса образования твердообразной сетки в ходе отжига.

После проведения *in situ*-исследований суспензий смектита методом малоуглового нейтронного рассеяния (МНР) в состоянии покоя было предположено существование длинномасштабной (~100 нм) структурной корреляции в водных разбавленных суспензиях набухающих глин, таких как гекторит и монтмориллонит [37], что оказалось очень полезным для построения новых гипотез механизмов образования сетки и объяснения комплексных реологических свойств. Данный размер структур также очень удобен для проведения экспериментов по рэлеевскому рассеянию на основе разной поляризуемости частиц глины и окружающей фазы.

Окамото с коллегами сконструировали реооптическое устройство для малоуглового рассеяния света под малыми углами при сдвиговом течении (Рео-МСП), которое позволяет выполнять динамические изме-

рения интенсивности рассеяния света, меняющейся в зависимости от внутренней структуры, развивающейся при сдвиговом течении [38]. Они изучали длинномасштабную корреляцию и ее изменение в суспензиях органогекторит/стирол (3,5/96,5 в объемном соотношении) при сдвиговом течении (плотность условного распределения $\Phi \geq 0,01$ [39]). В этой области как для предельного значения модуля $G'(\omega \rightarrow 0)$, так и для характеристического напряжения (σ_{fl}) имеет место следующее отношение:

$$G'(\omega \rightarrow 0) \sim \sigma_{fl} \propto \Phi^{4 \pm 0,2}. \quad (3.3)$$

Соотношение $G''(\omega)/G'(\omega)$ ($\tan \delta$) демонстрирует независимость от Φ и остается постоянной величиной, примерно равной 0,1. Такое поведение характерно для спитых структур самоподобия в области гелеобразования, как было показано Винтером [40].

Гекторит $(\text{Na}_{0,33}(\text{Mg}_{2,67}\text{Li}_{0,33})\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2)$ модифицировали четвертичным гексадецилом, октадецилом хлорида аммония $[(\text{C}_{16}\text{H}_{33})_{0,5}(\text{C}_{18}\text{H}_{37})_{1,5}\text{N}^+(\text{Cl}^-)]$ [38]. Отдельный силикатный слой (пластина) при очень большом разбавлении ($\Phi \ll 0,01$) имеет длину 60 нм. Для подтверждения временной зависимости внутренних структурных изменений при различных режимах стационарного сдвигового течения в реометре, измеряющем напряжения сдвига, были выбраны четыре скорости сдвига $\dot{\gamma}$. Временные зависимости переходной вязкости $\eta(\dot{\gamma}; t)$ при постоянной скорости сдвига, полученные при 25 °С, представлены на рисунке 3.6. При $\dot{\gamma} = 0,1$ и $1,0 \text{ с}^{-1}$ со временем вязкость постепенно возрастает и меняется в соответствии со степенным законом

$$\eta(\dot{\gamma}; t) \propto t^{\nu},$$

где $\nu = 0,5$ при $0,1 \text{ с}^{-1}$ и $\nu = 0,2$ при 1 с^{-1} . Когда же скорость сдвига составляет 10 и 100 с^{-1} (режим течения при больших напряжениях сдвига), вязкость снижается по закону

$$\eta(\dot{\gamma}; t) \propto t^{-\nu},$$

где $\nu = 0,17$ для обоих случаев.

Зависимость от времени среднеквадратичной флуктуации плотности $\langle \eta^2 \rangle$, среднеквадратичной анизотропии $\langle \delta^2 \rangle$ и соответствующие значения длинномасштабной корреляции (ξ_{η} и ξ_{δ}) при приложении или снятии нагрузки обсуждали как при низких ($0,5 \text{ с}^{-1}$), так и при высоких скоростях сдвига (60 с^{-1}) (рис. 3.7). До течения сетка органоглины по шкале длины оценивалась из $\xi_{\eta} = 450 \text{ нм}$, предполагалось существование сильно коагулированной структуры, образованной взаимодействиями частиц между собой [41]. Для предсказания комплексной динамики течения также важно учитывать границы между сетками. Уменьшение $\langle \eta^2 \rangle$ наблюдалось при течении в обоих случаях по сравнению с исходным состоянием системы (до сдвига). В основном это происхо-

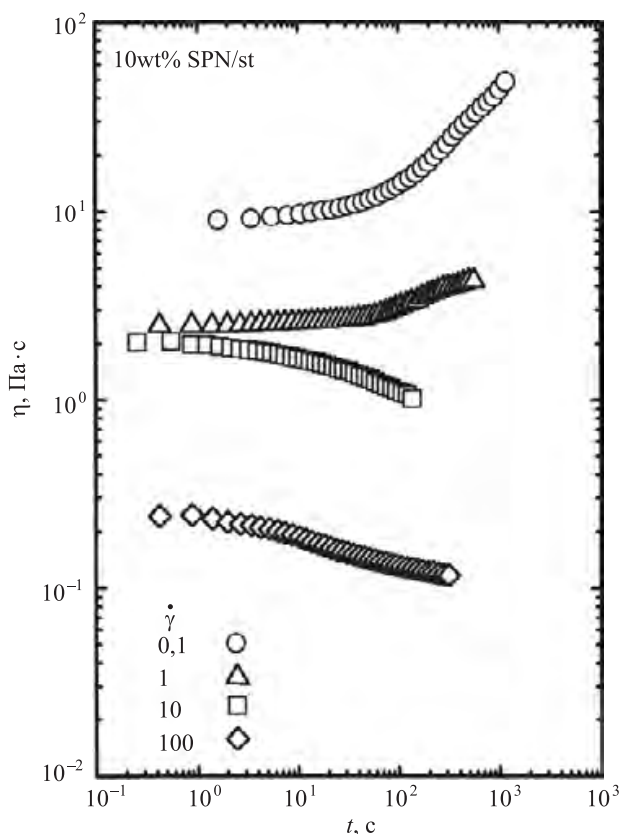


Рис. 3.6. Изменение во времени сдвиговой вязкости для суспензии органо-гекторит/стирол (объемное соотношение 3,5 : 96,5) при четырех скоростях сдвига. Взято с разрешения Реологического общества Японии из [38]

дит из-за действия гидродинамических сил, которые способствуют выравниванию сеток органоглины из-за их больших размеров.

При скорости сдвига $0,5 \text{ с}^{-1}$ (соответствующей режиму наибольшей ньютоновской вязкости) после приложения нагрузки наблюдается постепенное снижение $\langle \eta^2 \rangle$ и возрастание ξ_η . Одновременно скачкообразно возрастает $\langle \delta^2 \rangle$, но потом в процессе течения эта величина практически не меняется; ξ_s также остается постоянной, равной 400 нм, что указывает на развитие анизотропии в системе. После снятия нагрузки через 750 с $\langle \eta^2 \rangle$, наоборот, возрастает со временем и при $t = 1300 \text{ с}$ выходит на постоянное значение, а ξ_η становится равной 250 нм. Однако $\langle \delta^2 \rangle$ не падает до нуля, и полученная ориентация сетки с $\xi_s = 690 \text{ нм}$ в сдвиговом поле оказывается стабильной даже после снятия нагрузки. Со временем анизотропия постепенно развивается, формируя относительно стабиль-

ные ориентированные сетки, которые остаются стабильными даже после снятия нагрузки.

При скорости сдвига 60 с^{-1} после приложения нагрузки $\langle \eta^2 \rangle$ немного уменьшается, тогда как ξ_η не меняется. Что касается анизотропии, $\langle \delta^2 \rangle$ стабильно появляется при $\xi_s = 450 \text{ нм}$, но после снятия нагрузки она сразу исчезает, поэтому можно предположить, что такая упорядоченная, ориентированная структура сетки при высоком сдвиге лабильна (нестабильна) по сравнению со структурой при низкой скорости сдвига. Более того, из-за большой деформации имеет место проскальзывание и вращение доменов сетки, что в результате приводит к уменьшению сдвига [39]. Это напоминает разворот блоков расплавов сополимеров при одноосной деформации [43]. В расплавах нанокомпозитов, содержащих глину, сетчатая структура легко разрушается при деформации из-за зацеплений цепей полимера [19].

Структурный беспорядок создает энергетические барьеры, которые мешают перестройке или восстановлению сеток в состоянии с более низкой свободной энергией. В динамике типичных мягких стеклообразных материалов во внимание принимается малая степень свободы [12, 44]. Затруднение течения является обычным свойством комплексных жидкостей. Под действием напряжения вязкость определяется распределением времен релаксации «медленной моды» сеток. Предполагается, что нагрузка меняет характер распределения энергии и позволяет системе достигать новых метастабильных состояний [45]. По этой причине приложение слабого сдвига ($\dot{\gamma} = 0,5 \text{ с}^{-1}$) (намного меньше, чем предел текучести) рассматривается как сдвиговое условие восстановления $\eta(\dot{\gamma}; t) \propto t^{0,5}$, означающее, что со временем наибольшее время релаксации медленной моды снижается. Соответственно, постепенно исходная структура сетки восстанавливается и ξ_η возрастает.

После снятия сдвига начинается процесс старения (т. е. воссоздание связей между узлами сетки). В силу того что течение влияет на распределение энергии, становятся возможными новые метастабильные состояния: система развивается спонтанно, ξ_s возрастает, а ξ_η уменьшается. Так достигается устойчивое состояние.

В случае больших деформаций ($\dot{\gamma} = 60 \text{ с}^{-1}$) эти энергетические барьеры становятся тем существеннее, чем дольше происходило старение, так что наибольшее время релаксации непрерывно увеличивается. В результате после прекращения сдвига одно лишь тепловое движение оказывается недостаточным для полной структурной релаксации, поэтому сетка может оказаться в более высоком энергетическом состоянии (почти постоянная величина ξ_η). Броуновские силы слишком малы, чтобы изменить энергетические барьеры, созданные ориентированными сетчатыми структурами органоглины (вращательное броуновское движение пластинок гектриты оценивается примерно в 10^{-2} с при 25°C).

Приведенное обсуждение энергетических свойств может также успешно применяться для трактовки экспериментальных результатов исследований дисперсий изотропных частиц в ньютоновских жидких средах [44].

3.6. Выравнивание силикатных слоев в сетках

Частицы органоглины ориентируются не только при сдвиговом течении, но и при растяжении. Для лучшего понимания этого механизма важно знать, как частицы ориентируются в потоке. Леле с соавторами провели рентгенографические *in situ*-исследования [46] расплава синдиотактического полипропилена, содержащего слоистый силикат. Пластины глины быстро ориентировались, причем структура оставалась постоянной в течение длительного времени (~ 1500 с).

Ориентация силикатных пластин и нанокомпозитов на основе полиамида-6 была исследована *ex situ*-методом малоуглового рассеяния рентгеновских лучей [33]. Из-за большого аспектного отношения пластины глины после испытаний колебательным сдвигом большой деформации (КСБД) были ориентированы в основном параллельно друг другу (нормали пластин — вдоль направления градиента скорости) при разных временах воздействия.

В зависимости от того, как пластины глины ориентируются в композите, Коджима с соавторами [47] выделили в образце три последовательно меняющиеся по глубине области. В области, близкой к середине образца, где напряжения сдвига минимальны, пластины разориентированы, кристаллиты полиамида-6 располагаются перпендикулярно силикатным пластинам. В поверхностном слое сдвиговые напряжения очень велики, поэтому и пластины глины, и кристаллиты полиамида-6 оказываются параллельно расположенными по отношению к поверхности. В промежуточной области пластины глины из-за своей формы ориентируются параллельно поверхности, а кристаллиты полиамида-6 принимают ориентацию, перпендикулярную к плоскости силикатов. В другом исследовании [48] было показано, что расплавленные образцы нанокомпозитов на основе полиамида-6 демонстрируют плоскостную ориентацию силикатных пластин вдоль направления течения, причем она сильно зависит от времени сдвига и концентрации глины (максимальная ориентация достигается после воздействия со скоростью сдвига 60 с^{-1} в течение 15 мин).

Наоборот, ориентация происходит по нормали к поверхности глины, выравнивая направление течения через завихрения при сдвиге. Окамото с соавторами проводили наблюдения за структурой нанокомпозитов на основе полиамида-6 при сдвиге методом просвечивающей электронной микроскопии (содержание глины — 3,7 масс. %). Скорость сдвига в опыте составляла $0,0006 \text{ с}^{-1}$ [49]. Ориентация частиц глины вдоль оси z (отмечено стрелками А на рисунке 3.8) или параллельное выравнивание краев силикатных пластин в направлении сдвига (отмечено стрелками В) наблюдаются чаще, чем случайное расположение в матрице, хотя подробно рассмотреть их в этой плоскости невозможно. Следует подчеркнуть, что ориентация силикатных пластин в плоскости xz не является ярко выраженной, но в случае высокой скорости сдвига такое предположение оказывается справедливым, как впервые показали Коджима с соавторами [47].

При течении под воздействием растягивающих напряжений (низкая конвергенция, схождение при движении к одной точке) нанокомпозитов PPCN4 на основе полипропилена (содержание глины — 4 масс. %) методом электронной просвечивающей микроскопии было обнаружено образование структуры типа картонного домика [50, 51]. Перпендикулярное (не параллельное) выравнивание пластинок глины с высокой анизотропией по направлению течения может представляться маловероятным, однако может иметь место, особенно в случае градиента поля растяжения, при котором величина растягивающей скорости равна квадрату скорости сужения диаметра струи, если предположение об аффинной деформации, т. е. о постоянстве объема при растяжении справедливо. При таких условиях интенсивность диссипации энергии обусловлена тем, что вязкое сопротивление между поверхностью пластинок и полимером-матрицей минимально, когда пластины расположены перпендикулярно к направлению течения.

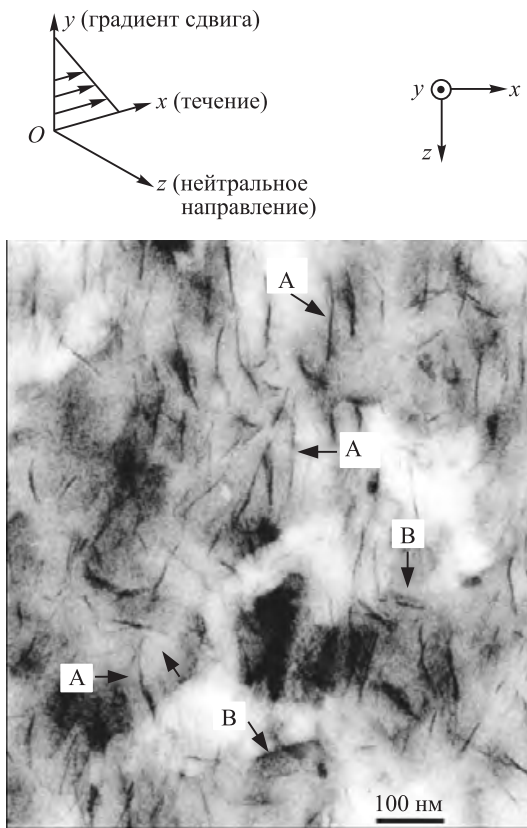


Рис. 3.8. Микрофотография N6CN — нанокомпозита на основе полиамида-6 с содержанием глины 3,7 масс. %, полученная методом просвечивающей электронной микроскопии (плоскость xz). Нанокомпозит подверглся сдвиговой деформации со скоростью сдвига $0,0006 \text{ с}^{-1}$ в течение 1000 с. Взято с разрешения из [49]

На рисунке 3.9 приведена зависимость продольной вязкости $\eta_E(\dot{\epsilon}_0; t^*)$ от времени t в двойных логарифмических координатах для композиций N6CN3,7 и PPCN4 при различных скоростях деформирования Генки, меняющихся от $0,001 \text{ с}^{-1}$ до $1,0 \text{ с}^{-1}$. Сплошная кривая показывает утроенную сдвиговую вязкость $3\eta_0(\dot{\gamma}; t^*)$ при $225 \text{ }^{\circ}\text{C}$ и постоянной скорости сдвига ($\dot{\gamma} = 0,001 \text{ с}^{-1}$). Видно, что для расплавов N6CN3,7 и PPCN4

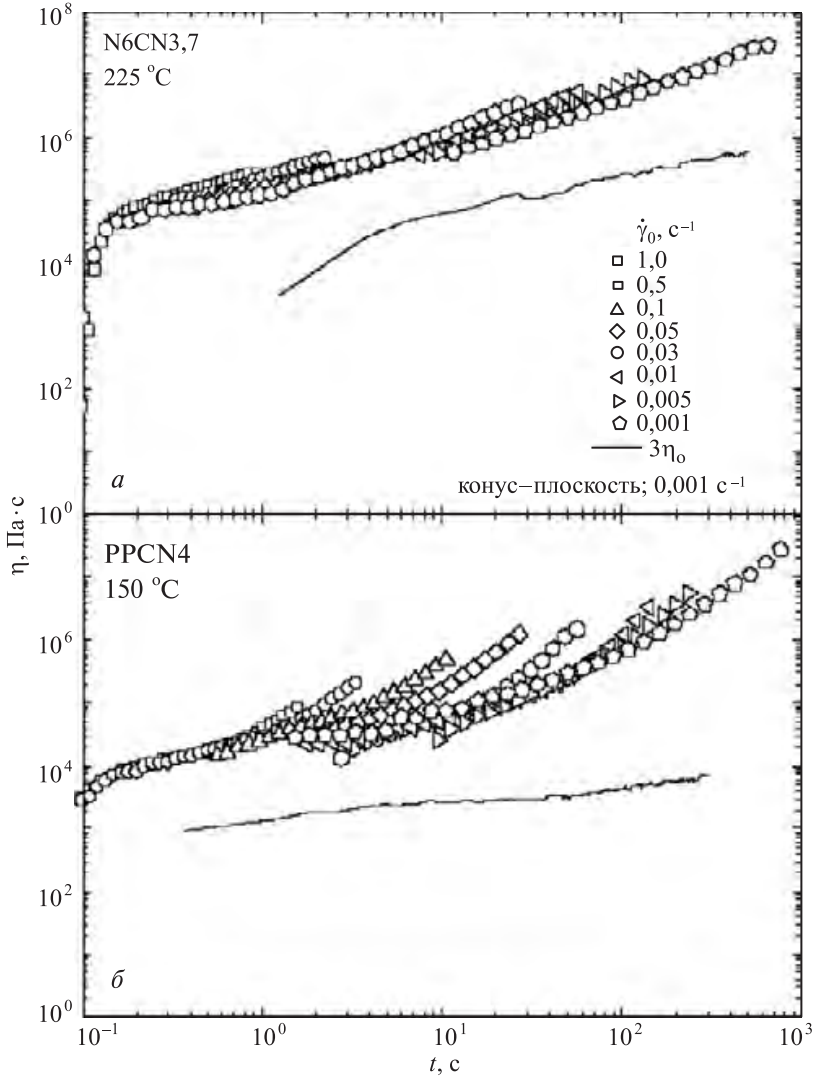


Рис. 3.9. Временная зависимость продольной вязкости $\eta_E(\dot{\epsilon}_0; t^*)$ для расплава нанокомпозита на основе полиамида-6 при $225 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (а) и для расплава нанокомпозита на основе полипропилена при $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (б). Сплошная линия соответствует утроенной сдвиговой вязкости $3\eta_0(\dot{\gamma}; t^*)$, измеренной при низкой скорости сдвига $0,001 \text{ с}^{-1}$ на реометре конус–плоскость. Взято с разрешения из [49]

расширенное правило Трутона $3\eta_0(\dot{\gamma}; t) \cong \eta_E(\dot{\epsilon}_0; t)$ [52] так же, как эмпирическое соотношение Кокса–Мерца, не выполняется (в противоположность расплавам обычных гомополимеров). Для $\eta_E(\dot{\epsilon}_0; t)$ при любых t расплав N6CN3,7 демонстрирует слабую тенденцию к твердению при растяжении в сравнении с расплавом PPCN4. Заметное твердение при растяжении расплава PPCN4 вызвано процессом воссоздания сетки путем перпендикулярного выравнивания частиц глины по отношению к направлению растяжения.

Из данных просвечивающей электронной микроскопии (см. рис. 3.8) следует, что в образце N6CN3,7 формируется тонкая дисперсия силикатных пластин длиной ($L_{\text{гл}}$) около 100 нм, толщиной ($d_{\text{гл}}$) 3 нм, характеризующихся корреляционной длиной между частицами глины ($\xi_{\text{гл}}$) от 20 до 30 нм. Величина $\xi_{\text{гл}}$ на один порядок ниже, чем $L_{\text{гл}}$, поэтому можно предположить образование жесткой доменной структуры диспергированных пластин глины, присоединенных к концам полимерных цепей (см. на значения энергии активации вязкого течения, приведенные на рисунке 3.10). Следовательно, ни медленная ($\dot{\gamma} = 0,001 \text{ с}^{-1}$), ни быстрая ($\dot{\gamma} = 1,0 \text{ с}^{-1}$) скорость растяжения вряд ли обеспечит возможность преодоления энергетических барьеров, созданных в условиях полимеризации *in situ*, и большое время релаксации сетки сохранится. Эта тенденция также наблюдалась в расплаве PPCN7,5 с высоким содержанием глины (7,5 масс. %) [31].

Для определения ориентации органоглины при сдвиге может оказаться полезным эксперимент малоуглового нейтронного рассеяния, который является информативным в данном случае методом из-за кон-

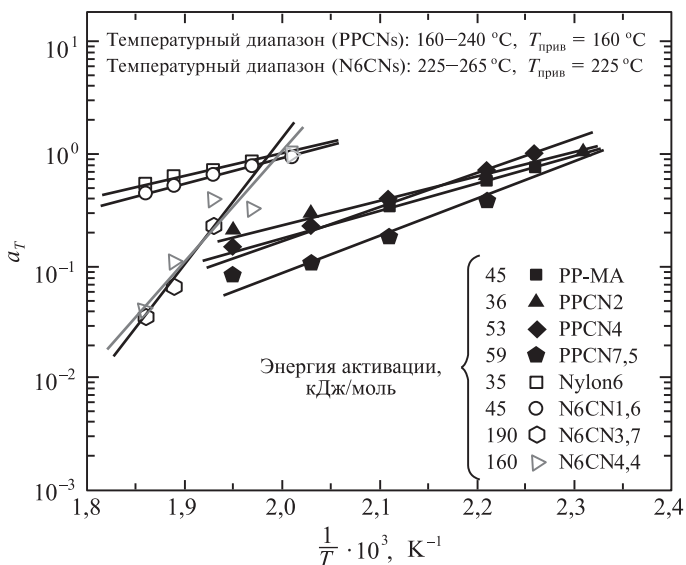


Рис. 3.10. Частотный фактор сдвига как функция температуры. Приведены значения энергии активации вязкого течения чистого полипропилена, полиамида-6 и нанокомпозитов на их основе с разным содержанием глины



Рис. 3.11. Сдвиговая ячейка куэттовского типа для малоуглового рассеяния нейтронов и моделирование ориентации пластин глины в ее пространстве. В качестве координаты выбран тангенциальный пучок. Взято из [34] с разрешения Американского химического общества

трастности глины (монтмориллонита) в D_2O [34]. В водных дисперсиях гектриты (3 масс. %) и полиэтиленоксида (2 масс. %) пластины были ориентированы по направлению потока, плоскости их поверхностей были перпендикулярны нейтральному направлению (рис. 3.11) [34]. Вполне возможно, что дисперсные пластины органоглины достигают не только параллельного выравнивания, но также перпендикулярного и даже поперечного выравнивания при сдвиге и растяжении.

При использовании малоуглового нейтронного рассеяния были исследованы водные суспензии глины (каолинита) как в состоянии покоя [54], так и при сдвиговом течении [55]. Около 30 лет назад было показано [51], что электростатическое притяжение между частицами природной глины в водных суспензиях вызвано более высокими полярными силами в среде. При изучении рассмотренных нанокомпозиов могут быть полезными их характерные свойства, проявляющиеся в водных суспензиях природной глины, — предел текучести, тиксотропия и реопексия. Более детальные обзоры различных типов экспериментов можно найти в литературе [56–63].

3.7. Заключение

Итак, для лучшего понимания динамики мягких стекол в расплавах нанокомпозитов мы обсудили некоторые результаты, касающиеся мезомасштабных структур органоглиняных сеток, недавно полученные методами реометрии в комбинации с экспериментами по рассеянию и электронной микроскопии. Однако трактовать результаты довольно трудно из-за присущим сеткам свойств.

Наши экспериментальные результаты являются не очень весомыми доказательствами развития мезомасштабной структуры в полимерных нанокомпозитах, многие статьи вообще игнорируют существование перколяции сеток органоглины, их метастабильных и неравновесных состояний. После того как перколяционная сетка сформирована, кристаллизация замедляется, термостабильность и модуль усиливаются [64, 65].

Для разработки высокоэффективных материалов на основе полимерных нанокомпозитов и их переработки поиск корреляций между структурой мезомасштабной сетки и макроскопическими свойствами должен быть проведен с привлечением инновационных методик, таких как трехмерная просвечивающая электронная микроскопия и ИК-спектроскопия с преобразованием Фурье.

Литература

1. Sinha Ray S, Okamoto M, "Polymer/Layered Silicate Nanocomposites: A Review from Preparation to Processing" *Prog. Polym. Sci.*, 28, 1539–1641 (2003).
2. Vaia RA, Wagner HD, "Framework for Nanocomposites" *Materials Today*, 7, 32–37 (2004).
3. Gao F, "Clay/Polymer Composites: The Story" *Materials Today*, 7, 50–55 (2004).
4. Okamoto M, "Recent Advances in Polymer/Layered Silicate Nanocomposites: An Overview from Science to Technology" *Mater. Sci. Tech.*, 22, 7, 756–779 (2006).
5. Okada A, Usuki A, "Twenty Years of Polymer-Clay Nanocomposites" *Macromol. Mater. Eng.*, 291, 1449–1476 (2006).
6. Hussain F, Hojjati M, Okamoto M, Gorga RE, "Review Paper: Polymer–Matrix Nanocomposites, Processing, Manufacturing, and Application: An Overview" *J. Composite Mater.*, 40, 1511–1575 (2006).
7. Usuki A, Kojima Y, Okada A, Fukushima Y, Kurauchi T, Kamigaito O, *J. Mater. Res.*, 8, 1174 (1993).
8. Vaia RA, Giannelis EP, *Macromolecules*, 30, 8000 (1997).
9. Krishnamoorti R, Vaia RA, Giannelis EP, *Chem. Mater.*, 8, 1728 (1996).
10. Rao Y, Pochan JM, *Macromolecules*, 40, 290 (2007).
11. Treece MA, Oberhauser JP, *Macromolecules*, 40, 571 (2007).

12. Sollich P, Lequeux F, Hebraud P, Cate ME, *Phys. Rev. Lett.*, 78, 2020 (1997).
13. Krishnamoorti R, Giannelis EP, *Macromolecules*, 30, 4097 (1997).
14. Fornes TD, Yoon PJ, Keskkula H, Paul DR, *Polymer*, 42, 9929 (2001).
15. Hoffman B, Dietrich C, Thomann R, Friedrich C, Mulhaupt R, *Macromol. Rapid Commun.*, 21, 57 (2000).
16. Ren J, Silva AS, Krishnamoorti R, *Macromolecules*, 33, 3739 (2000).
17. Mitchell CA, Krishnamoorti R, *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, 40, 1434 (2002).
18. Lepoittevin B, Devalckenaere M, Pantoustier N, Alexandre M, Kubbies D, Calberg C, Jerome R, Dubois P, *Polymer*, 43, 1111 (2002).
19. Solomon MJ, Almusallam AS, Seefeldt KF, Somwangthanaroj S, Varadan P, *Macromolecules*, 34, 1864 (2001).
20. Galgali G, Рамеш С, Lele A, *Macromolecules*, 34, 852 (2001).
21. Lele A, Mackley M, Galgali G, Рамеш С, *J. Rheol.*, 46, 1091 (2002).
22. Treece MA, Oberhauser JP, *Polymer*, 48, 1083 (2007).
23. Sinha Ray, S, Maiti, P, Okamoto, M, Yamada, K, Ueda, K, *Macromolecules*, 35, 3104 (2002).
24. Sinha Ray S, Yamada K, Okamoto M, Ueda K, *Polymer*, 44, 6631 (2003).
25. Sinha Ray S, Okamoto K, Okamoto M, *Macromolecules*, 36, 2355 (2003). *Rheology in Polymer/Clay Nanocomposites* 77.
26. Okamoto K, Sinha Ray S, Okamoto M, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, 41B, 3160 (2003).
27. Krishnamoorti R, Yurekli K, *Current Opinion in Colloid Interface Sci.* 6, 464 (2001).
28. Maiti P, Nam PH, Okamoto M, Kotaka T, Hasegawa N, Usuki A, *Macromolecules*, 35, 2042 (2002).
29. Williams ML, Landel RF, Ferry JD, *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 3701 (1955).
30. Maiti P, Okamoto M, *Macromole. Mater. Eng.*, 288, 440 (2003).
31. Nam, PH, Master Thesis, Toyota Technological Institute (2001).
32. Brenner H, *Int. J. Multiphase Flow*, 1, 195 (1974).
33. Ren J, Casanueva BF, Mitchell CA, Krishnamoorti R, *Macromolecules*, 36, 4188 (2003).
34. Schmidt G, Nakatani AI, Butler PD, Karim A, Han CC, *Macromolecules*, 33, 7219 (2000).
35. Saito T, Okamoto M, Hiroi R, Yamamoto M, Shiroi T, *Polymer*, 48, 4143 (2007).
36. Tanaka H, Meunier J, Bonn D, *Phys Rev. E*, 69, 031404 (2004).
37. Mourchid A, Delville A, Lambard J, Lecolier E, Levitz P, *Langmuir*, 11, 1942 (1995).
38. Okamoto M, Sato H, Taguchi H, Kotaka T, *Nippon Rheology Gakkai-shi*, 28, 201 (2000).

39. Okamoto M, Taguchi H, Sato H, Kotaka T, Tatayama H, *Langmuir*, 16, 4055 (2000).
40. Winter HH, Chambon F, *J. Rheol.*, 30, 367 (1986).
41. Sinha Ray S, Okamoto K, Okamoto M, *Macromolecules*, 36, 2355 (2003).
42. Hsiao BS, Stein RS, Deutscher K, Winter HH, *J. Polym. Phys.*, 28, 1571 (1990).
43. Kobori Y, Kwon YK, Okamoto M, Kotaka T, *Macromolecules*, 36, 1656 (2003).
44. Bonn D, Tanase S, Abou B, Tanaka H, Meunier J, *Phys. Rev. Lett.*, 89, 015701 (1992).
45. Lacks D, *Phys Rev. E*, 64, 51508 (2001).
46. Lele A, Mackley M, Galgali G, Ramеш C, *J. Rheol.*, 46, 1091 (2002).
47. Kojima Y, Usuki A, Kawasumi M, Okada A, Kurauchi T, Kamigaito O, Kaji K, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, 33, 1039 (1995).
48. Medellin-Rodriguez FJ, Burger C, Hsiao BS, Chu B, Vaia RA, Phillips S, *Polymer*, 42, 9015 (2001).
49. Okamoto M, "Polymer/Layered Silicate Nanocomposites," Rapra Review Report 163, 166 pp, Rapra Technology Ltd., London (2003).
50. Okamoto M, Nam PH, Maiti P, Kotaka T, Hasegawa N, Usuki A, *Nano. Lett.*, 1, 295 (2001).
51. van Olphen H, *An Introduction to Clay Colloid Chemistry*, Wiley: New York (1977).
52. Trouton FT, *Proc. Roy. Soc.*, A77, 426 (1906).
53. Cox WP, Merz EH, *J. Polym. Sci.*, 28, 619 (1958).
54. Pignon F, Magnin A, Piau JM, *J. Rheol.*, 42, 1349 (1998).
55. Jogun SM, Zukoski CF, *J. Rheol.*, 43, 847 (1999).
56. Roe R, *Methods of X-ray and Neutron Scattering in Polymer Science*. New York: Oxford University Press, p.199 (2000).
57. Bafna A, Beaucage G, Mirabella F, Skillas G, Sukumaran S, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 39, 2923 (2001).
58. Koo CM, Kim SO, Chung IJ, *Macromolecules*, 36, 2748 (2003).
59. Yalcin B, Valladares D, Cakmak M, *Polymer*, 44, 6913 (2003).
60. Bafna A, Beaucage G, Mirabella F, Mehta S, *Polymer*, 44, 1103 (2003).
61. Yalcin B, Cakmak M, *Polymer*, 45, 2691 (2004).
62. Loo LS, Gleason KK, *Polymer*, 45, 5933 (2004).
63. Kim JH, Koo CM, Choi YS, Wang KH, Chung IJ, *Polymer*, 45, 7719 (2004).
64. Wang K, Liang S, Deng J, Yang H, Zhang Q, Fu Q, Dong X, Wang D, Han CC, *Polymer*, 47, 7131 (2006).
65. Rao Y, Pochan JM, *Macromolecules*, 40, 290 (2007).

ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОКОМПОЗИТЫ С ГРАФИТОВЫМИ НАПОЛНИТЕЛЯМИ

Гуохуа Чен и Вайфенг Чжао

Национальный университет Хуацяо, пров. Фуцзянь, Китай

4.1. Введение

Модификация полимеров путем введения в них неорганических наполнителей как второй фазы широко распространена. Это обычная практика для улучшения таких свойств полимерных материалов, как твердость, ударная прочность, деформационная теплостойкость, усадка при литье. Добавление наполнителей также является эффективным способом получения новых полимерных материалов с заданными свойствами для удовлетворения меняющихся требований промышленности и замены некоторых существующих материалов, имеющих ограничения по свойствам. Полимерные композиты, содержащие неорганические добавки, включая CaCO_3 , глину, гидроксид алюминия, углеродные или стеклянные волокна и сажу, производятся для многих целей. Из них делают предметы быта, упаковку, спортивные товары, элементы космических кораблей, самолетов и автомобилей и т. д. Эти композиты сочетают в себе не только замечательные свойства полимеров (коррозионную стойкость, легкость и простоту переработки), но и преимущества наполнителей, например электропроводность.

В последние десятилетия для получения электропроводящих полимерных материалов проводятся интенсивные исследования композитов полимер/графит [1–10]. Широко распространенный графит является материалом с известными механическими, электрическими и термическими свойствами, и его использование дает возможности получения экономически эффективных мультифункциональных композиционных материалов. В частности, хорошая электропроводность при комнатной температуре делает графит идеальным материалом для придания электропроводности полимерным композитам (10^4 См/см). Порошок графита используется для введения в полимеры, которые являются либо диэлектриками, либо проводниками [11–13]. При изменении объемной доли графитового наполнителя могут быть заметно модифицированы и механические свойства, и электропроводность полимера-матрицы. Электропроводность полимерных композитов определяется не только проводимостью графита, но и концентрацией наполнителя в матрице полимера. Более того, на электропроводность графит-полимерных композитов заметно влияет размер и форма частиц

наполнителя-графита [14–16]. Данные электропроводные полимерные композиты могут найти применение в различных областях, таких как электромагнитное экранирование, электростатическое разряжение, защита от молнии композитных панелей самолета, электроды батареи, топливные элементы, электронные выключатели или сенсоры, чувствительные к давлению и др.

В дополнение к отличной электропроводности графит является хорошей твердой смазкой и материалом для изготовления грифеля карандашей. Графит используется для улучшения трибологических свойств полимерных материалов, таких как каучуки [17, 18]. Композиты на основе резины, наполненные твердой смазкой, с хорошим сопротивлением износу и низким коэффициентом трения предпочтительны для их применения в качестве герметиков в элементах радиальных уплотнителей валов, уплотнителей клапанов валов, поршней возвратно-поступательного хода и уплотнений штока [19, 20].

Большой прогресс в производстве и применении проводящих полимерных композитов был достигнут при использовании приема смешения проводящих компонентов с полимерной матрицей в начале 1970-х годов, когда графит начали вводить в полимерные композиты в качестве проводящего ингредиента [1, 2]. Было установлено, что электропроводные свойства полимерных композитов определяются проводящей сеткой, образованной проводящими наполнителями. Электропроводность зависит от множества факторов, включая природу полимера, тип проводящих наполнителей, условия переработки, температуру и т. п. [21]. Были предложены несколько теорий: перколяционная теория, теория среднего поля и теория исключенного объема. Однако традиционные электропроводящие наполнители, размер которых находится в микрометровом диапазоне, обычно приводят к заметному снижению механических свойств при необходимых для достижения достаточной электропроводности концентрациях наполнителя. В последние годы большое внимание уделялось наноструктурированным полимерным нанокомпозитам, в которых хотя бы одна из фаз имеет средний размер кристаллитов (зерен) в нанодиапазоне (меньше, чем 100 нм). По сравнению с обычными композитами наноразмерные добавки более эффективно работают, что обусловлено их большой удельной поверхностью. Изменение толщины графитовых частиц от микро- до наноразмеров приводит к резкому увеличению отношения площади поверхности к объему — на три порядка, поэтому наполнение нанопластинами графита, характеризующимися высоким аспектным отношением (соотношением длины и толщины) и большой площадью поверхности, может дать хороший эффект даже при минимальной концентрации. Таким образом, чтобы эффективно использовать в качестве наполнителя слоистый графит, слои графита должны быть максимально эксфолиированы (отделены друг от друга) и тщательно распределены в полимерной матрице, а на границе раздела матрица/наполнитель должна быть обеспечена хорошая адгезия, так как она также играет критическую роль в механическом поведении нанокомпозитов.

Нанопластины графита — дешевый наполнитель, к тому же обладающий отличными механическими, электрическими и термическими свойствами; они могут конкурировать со свойствами углеродных нанотрубок (табл. 4.1) и быть отличной альтернативой частицам сажи, углеродным волокнам и нанотрубкам, наиболее часто используемым в последнее время для модификации полимеров. Доказано, что полимерные материалы, содержащие нанопластины графита, превосходят традиционные полимерные композиты с микронными природными порошками графита. Такие нанокомпозиты имеют огромный потенциал для того, чтобы прийти на замену промышленным проводящим полимерным композитам. Целью этого обзора является освещение последних открытий в области наноструктур графита, переработки, оценки свойств, требований и потенциального применения нанокомпозитов полимер/графит.

Таблица 4.1

Свойства и стоимость углеродных материалов

Углеродные материалы	Электрическое сопротивление, См/см	Теплопроводность, Вт/(м · К)	Модуль упругости при растяжении	Модуль Юнга	Плотность, г/см ³	Стоимость, фунтов стерлингов
Нанопластины графита [22, 23, 24]	~2,0 · 10 ⁴	~3000	1000 ГПа	1060 ГПа	~2,25	5
Углеродные нанотрубки [23, 25]	10 ⁻² ÷10 ⁵	от 1700 до 6000	от 270 ГПа до 1 ТПа	>1 ТПа	~2,10	>45000
Углеродное волокно [23]	~10 ⁴	от 500 до 1000	от 200 до 700 ГПа	—	1,7÷2,1	>15
Сажа [26]	~10 ²	—	—	—	~1,8	~1,5

4.2. Наноструктурированный графит

У графита как у слоистого материала соотношение площади поверхности к объему можно записать в виде $2/t + 4/l$, где t — толщина, l — длина сторон пластинки [22]. Ключевой момент использования графита в качестве наноармирующего наполнителя — это способность его расслаиваться на пластины нанометровой толщины.

4.2.1. Соединения интеркалированного графита

Графит — это кристаллический углерод со слоистой структурой. В графите $2s$ -, $2p_x$ - и $2p_y$ -электроны атома углерода формируют три sp^2 -гибридизованные орбитали. $2p_z$ -электрон образует делокализованную π -орбиталь. Внутри каждого слоя sp^2 -гибридизованная орбиталь перекрывает другую, что приводит к образованию σ -связей между атомами углерода. Через σ -связь атомы углерода в плоскости слоя организуются в гексагональную структуру. Одновременно, благодаря слабым ван-дер-ваальсовым силам, которые обусловлены слабо связанными π -электронами с высокой подвижностью, слои удерживаются вместе, образуя последовательность ...АВАВ.... В результате физические характеристики графита сильно зависят от направления приложения нагрузки — параллельно или перпендикулярно слоям (табл. 4.2) [27].

Таблица 4.2

Свойства графита при комнатной температуре*

Свойство	В базисной плоскости	Поперек базисной плоскости
Электрическое сопротивление, Ом · см	$4 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-3}$
Теплопроводность, Вт/(м · К)	250	80
Коэффициент термического расширения, К ⁻¹	$-1,2 \cdot 10^{-6}$	$25,9 \cdot 10^{-6}$
Модуль Юнга, ГПа	1060	35,6

* Перепечатано из [27] с разрешения Elsevier Ltd.

В отличие от силикатных глинистых минералов графит не несет на себе заряд. Слои графита не содержат реакционноспособные ионные группы, поэтому другие вещества нельзя интеркалировать в галереи графита реакциями ионного обмена, как это возможно сделать в слоистых силикатах. Однако графит может вступать во взаимодействие с определенными атомами, молекулами и ионами, позволяя гостевым частицам оказываться в межслоевых плоскостях решетки — так образуются графитовые интеркалированные соединения (ГИС). Гостевые вещества называются интеркалятами. Механизм интеркаляции основан на передаче заряда между интеркалятом и углеродом. Электроны распределяются по делокализованным π -связям от интеркалята или переходя к нему, при этом энергия Ферми, свойственная чистому графиту, изменяется.

Таким образом, ГИСы могут отличаться повышенной электропроводностью по сравнению с исходным графитом. Соединения графита, интеркалированные донорами электронов, такими как щелочные металлы, известны как ГИСы донорного типа; вещества, образованные

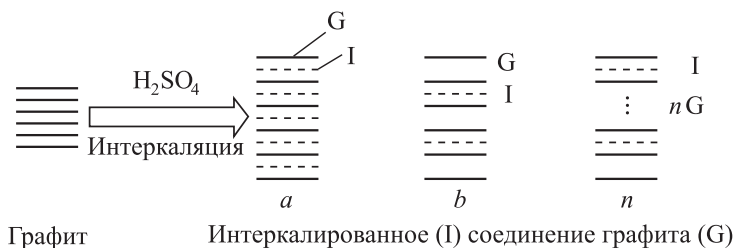
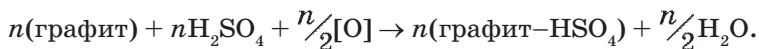


Рис. 4.1. Получение бисульфата графита

интеркалянтами, являющимися акцепторами электронов, такими как галогены, галогениды и кислоты, называют ГИСами акцепторного типа. Однако необходимо отметить, что ионное взаимодействие между атомами углерода и интеркалянтами не является научно подтвержденным фактом (как в полностью ионных твердых телах), хотя передача электронов в ГИС действительно имеет место. На самом деле степень ионизации очень низка, и многие интеркалянты сохраняют свою молекулярную форму в графитовой решетке.

В ГИС интеркалятом заполняется только фракция межслоевого пространства; углеродные и интеркалянтные слои, перемежаясь, формируют стопку (явление самоорганизации). Определенное число углеродных слоев между двумя слоями интеркалянта определяет период ГИС, который меняется от 1 до n — в зависимости от условий и особенностей интеркалянта. Период может быть определен методом рентгеновского анализа или по интеркаляционным изотермам, и он всегда снижается с ростом концентрации интеркалянта.

Графит образует интеркалированные композиты с рядом кислот: азотной, серной, хлорной и селеновой и др. Бисульфат графита (графит- H_2SO_4) является наиболее часто используемым ГИСом для приготовления графитовых наноластин при получении нанокомпозитов полимер/графит. Обычно его готовят путем смешивания графита со смесью концентрированной серной кислоты и дымящей азотной кислоты, служащей окислителем. Порядок укладки слоев в стопки меняется в зависимости от условий интеркаляции (рис. 4.1). Реакция, происходящая между графитом и концентрированной серной кислотой, может быть описана следующим образом [24, 25]:



Здесь $[\text{O}]$ — окислитель; графит- HSO_4 — ГИС.

4.2.2. Эксфолиация графита

ГИСы обладают уникальной способностью к значительному необратимому расширению. Некоторые из них при нагревании могут быть расширены в несколько сотен раз. Процесс эксфолиации происходит при испарении интеркалянта под действием высокой температуры, при этом пластины графита увеличиваются в размере вдоль оси c . В принципе,

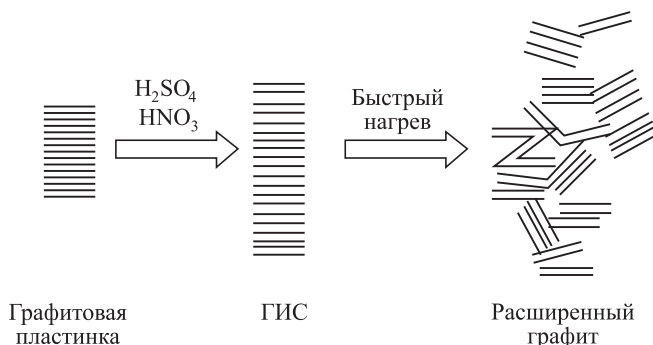


Рис. 4.2. Получение расширенного графита через использование смеси кислот HNO_3 и H_2SO_4 . Взято с разрешения из [58]

для эксфолиации графита может применяться любой интеркалят, но степень расширения, определяемая как величина, обратная объемной плотности, зависит от конкретного гостевого соединения. Широко распространенным ГИСом является бисульфат графита, полученный при использовании смеси кислот HNO_3 и H_2SO_4 . Подвергнутый интенсивному термическому удару бисульфат графита необратимо расширяется в сотни раз вдоль оси с (рис. 4.2), образуя материал низкой плотности и высокой термостойкости с частицами червеобразной формы (рис. 4.3). Такой продукт известен как эксфолиированный, или расширенный, графит (РГ). Степень расширения может достигать до 300. Обычно РГ имеет рыхлую структуру с большим количеством беспорядочно разрушаемых и деформируемых пор разного размера — от 10 нм до 10 мкм, объемная плотность этого материала составляет $\sim 0,004 \text{ г/см}^3$ [30].

РГ состоит из большого числа расслоенных листов, большинство из которых имеет толщину порядка нанометров. Этот материал был пред-

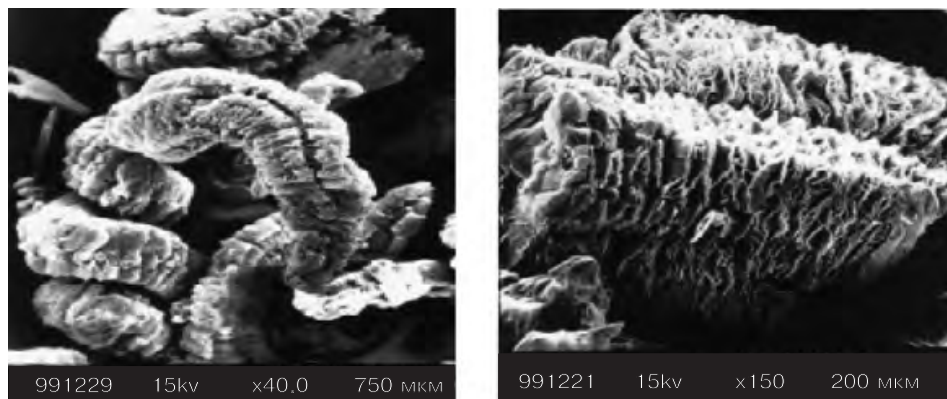


Рис. 4.3. Электронная микрофотография расширенного графита, полученная методом сканирующей электронной микроскопии. Взято с разрешения из [58]

ложен в качестве прекурсора графитовых нанопластин для получения нанокompозитов полимер/графит в конце 1990-х гг. [31]. Благодаря высокому коэффициенту расширения галереи РГ могут быть легко интеркалированы мономерами или полимерами. После интеркаляции частицы РГ распределяются в полимерной матрице в форме нанопластин толщиной от 10 до 50 нм. Полученные композиты имеют низкий порог перколяции. Прodelано много исследований, посвященных получению и изучению нанокompозитов полимер/РГ, таких как полиметилметакрилат (ПММА)/РГ [32], сополимер стирола с акрилонитрилом/РГ [33], полистирол (ПС)/РГ [34] и ПС–ПММА/РГ [35].

Ключевой проблемой при получении полимерных нанокompозитов является диспергирование наполнителя, которое должно быть по возможности максимально однородным. Доказано, что явления агрегации в наноматериалах приводят к ухудшению механических свойств. Эффективно диспергировать графитовые нанопластины путем прямого смешения РГ с полимерами сложно, так как графитовые листы в структуре РГ прочно сцеплены друг с другом. Для улучшения нанодиспергирования графита в полимерной матрице предложен простой способ — получение индивидуальных нанопластин графита из РГ [36, 37]. Частицы РГ были раздроблены воздействием ультразвука в спиртовом растворе. Микрофотография, сделанная с помощью сканирующей электронной микроскопии, представлена на рисунке 4.4, откуда видно, что полученные графитовые нанопластины (ГНЛ) имеют толщину 30–80 нм и большое аспектное отношение — от 100 до 500; все это способствует формированию проводящей сетки в полимерной матрице. Плотность порошка составляет $0,015 \text{ г/см}^3$, что гораздо ниже, чем у исходного пластинчатого графита ($2,25 \text{ г/см}^3$) [38]. Технология ГНЛ предоставляет новые возможности получения электропроводных нанокompозитов полимер/графит.

Микродифракционная электронограмма графитовых нанопластин сильно отличается от электронограммы образцов обычного графита

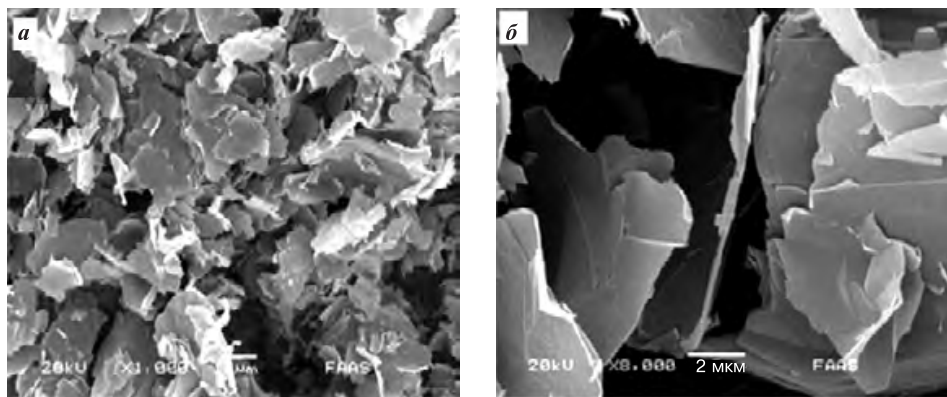


Рис. 4.4. Микрофотография графитовых нанопластин, полученная методом сканирующей электронной микроскопии: *а* — более низкое разрешение; *б* — более высокое разрешение. Взято с разрешения Американского общества инженеров по переработке пластмасс из [125]

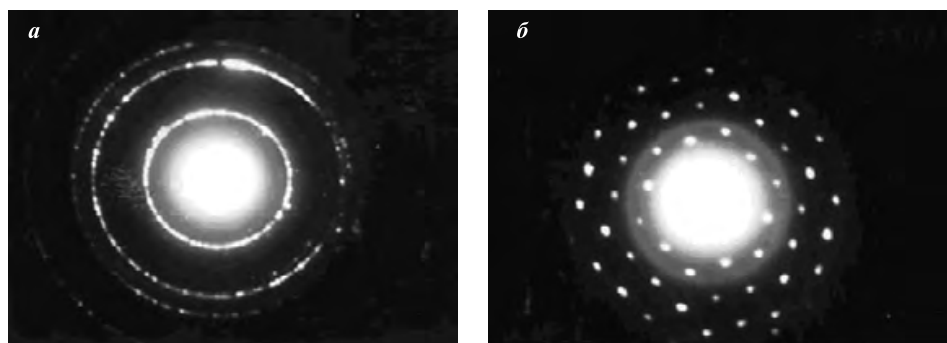


Рис. 4.5. Микродифракционные электронограммы нанолиста графита (а) и обычного графита (б). Взято с разрешения из [38]

(рис. 4.5). Их сопоставление позволяет сделать вывод о том, что кристаллы графитовых нанопластин были разрушены до более мелких при воздействии термоудара и последующей ультразвуковой обработки.

4.2.3. Графен

Графен — это плоский слой атомов углерода (толщиной в 1 атом), объединяющихся в макромолекулы в виде шестичленных колец. Считается, что из-за исключительных электрических, термических и механических свойств этот материал может найти самое широкое применение.

Графен можно получить двумя путями: из высокоориентированного пиролитического графита (ВОПГ) и из оксида графита (ОГ). Этот материал впервые получил А. К. Гейм в 2004 г. Он «отодрал» углеродные листы от ВОПГ при помощи липкой ленты, а затем осадил высвобожденные монослои в ацетоне на кремниевую пластину, покрытую слоем SiO_2 [39]. Этот метод, известный как микромеханическое расслоение, получил широкое распространение в большинстве экспериментальных исследований графена, однако из-за очень низкого выхода он не подходит для промышленных масштабов. В этом смысле приемлем второй способ получения графена — с использованием в качестве исходного вещества ОГ. При обработке смесью концентрированной серной кислоты, нитрата натрия и перманганата калия природный графит превращается в гидрофильный ОГ. Благодаря присутствию гидроксильных и эпоксидных групп на базисной плоскости и карбонильных и карбоксильных групп, расположенных на краях, ОГ растворяется в воде, теряя при этом электропроводность. Он имеет слоистую структуру, аналогичную природному графиту. При ультразвуковой обработке в водной среде ОГ имеет тенденцию легко эксфолироваться в единичные слои оксида графена. После последующего химического восстановления электрически непроводящие слои оксида графена превращаются в проводящий графен преимущественно благодаря реконструкции графитовой сетки sp^2 -связей [40–42]. Восстанавливающими агентами могут быть гидра-

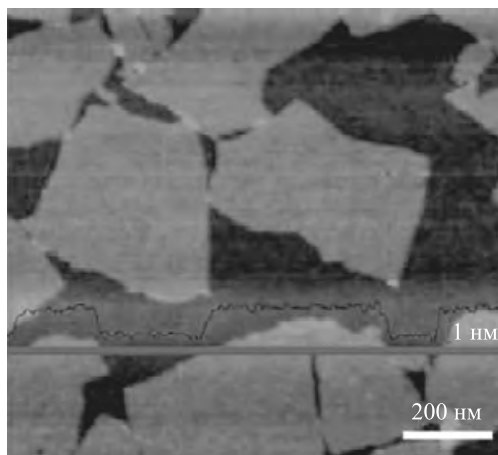


Рис. 4.6. Микрофотографии графена на силиконовой подложке, полученного методом полива из разбавленной водной дисперсии. Атомно-силовая микроскопия. Взято с разрешения из [43]

зин и его производные, такие как диметилгидразин. На рисунке 4.6 приведена фотография проводящего графенового листа в результате химического превращения ОГ на силиконовой подложке, полученная методом атомно-силовой микроскопии [43].

4.3. Наноккомпозиты полимер/графит

Полимерные наноккомпозиты представляют интерес не только для научных исследований, в первую очередь — это продукты, сулящие коммерческую выгоду. Можно с большой уверенностью ожидать улучшения механических или функциональных свойств, если частицы нанонаполнителя имеют большое аспектное отношение и хорошо диспергированы в полимере, за исключением случая, когда между фазами имеет место сильное взаимодействие. Помимо слоистых силикатов и углеродных нанотрубок, в наноккомпозиционные системы часто добавляют графитовые нанопластины нанометровой толщины. Аналогично силикатным глинистым материалам, для получения наномасштабных структур необходима эксфолиация графитовых пластин. Благодаря расширяющимся ГИСам, таким как бисульфат графита, расширенный графит легко получить. Расширенный графит обеспечивает возможность наполнения полимерных матриц нанопластинами графита, он был получен и предложен для использования в качестве армирующего наполнителя для полимерных систем еще в начале 1990-х гг. С тех пор были предприняты значительные усилия по оптимизации метода переработки в отношении достижения максимальной эксфолиации и дисперсности графита, а также обеспечения прочной адгезии между графитом и матрицей в межфазной области для повышения прочности и проводи-

мости. Были проведены интенсивные исследования эксфолиированных нанокомпозиционных соединений на основе различных полимеров, содержащих частицы графита разных размеров [44, 45], для подтверждения преимуществ нанокомпозитов полимер/графит по сравнению с обычными микрокомпозитами. Значительное улучшение их свойств связывают с большими аспектным отношением и площадью поверхности наноструктур графита. Использование эксфолиированного графита может оказаться полезным, когда требуется материал, обеспечивающий электромагнитную защиту и пароизоляцию, высокую теплопроводность и повышенную огнестойкость [46–51].

В следующих подразделах будут обсуждаться методы получения и оценки свойств, перспективные характеристики нанокомпозитов полимер/графит, а также возможные области их применения.

4.3.1. Получение и переработка

Для производства нанокомпозитов полимер/графит вначале нужно озаботиться выбором метода смешения для достижения наилучшего распределения нанопластин графита в фазе матрицы. После того как графит эксфолиирован, можно использовать один из методов получения и переработки традиционных композиционных материалов. Например, для получения нанокомпозитов на основе термопластов могут быть успешно применены методики введения эксфолиированного графита в органические соединения посредством экструзии, литья под давлением, прессования и др.

В зависимости от состояния полимерной массы в процессе смешения, основные методы получения нанокомпозитов полимер/графит можно разделить на три класса: полимеризация *in situ*, смешение в растворе и смешение в расплаве. Обычно методы компаундирования позволяют добиться более хорошей дисперсности наполнителей и более сильного взаимодействия между наполнителями и полимерной фазой. Таким образом, композиты, полученные *in situ*, имеют лучшие механические свойства и более низкий порог перколяции, чем композиты, полученные смешением в расплаве и другими *ex situ*-методами. Обсудим эти технологии подробнее.

4.3.1.1. *In situ*-полимеризация

Полимеризация *in situ* — это метод, при котором мономер (или олигомер) полимеризуется в присутствии наполнителей. Полимеризация мономера может проводиться либо в растворе (полимеризация в растворе), либо в системе мономеров в отсутствие растворителя (блочная полимеризация). Вначале этот подход был применен для производства обычных полимеров, наполненных графитовым волокном [52, 53], а затем распространен на получение нанокомпозитов полимер/РГ в 1990-х годах [54]. Изготовление РГ-нанокомпозитов полимеризацией *in situ* включает введение или «интеркаляцию» мономера в межплоскостное пространство РГ и последующую полимеризацию. Полимеризация

может быть инициирована теплом, радиацией или инициатором. Жидкий мономер легко может проникать в это пустое пространство, так как структура графита состоит из пор и расширенных галерей между слоями. Кроме того, благодаря высокому значению коэффициента расширения и наличия полярных групп на слоях РГ, галереи могут быть легко интеркалированы путем физической адсорбции [55]. Заметим, что интеркаляция, упоминаемая здесь, отличается от интеркаляции, используемой в ГИС, так как в последнем случае исходное межслоевое пространство кристалла графита было увеличено до гораздо больших нерегулярных пустот, образующихся в каждой расслоенной нанопластинке путем испарения сульфатного интеркалята, которому ГИС подвергается при нагревании. После полимеризации связанные нанопластинки разделяются на изолированные нанослои, затем они заново организуются, образуя дисперсную фазу в матрице. В результате образуется композит, наполненный графитовыми нанопластинами.

Полимеризация *in situ* — несложный широко применяемый метод для получения полимерных наноккомпозитов с частицами РГ в качестве наполнителей. В качестве полимерной матрицы используются не только термопласты, но и реактопласты. В работе [56] в эпоксидную смолу добавляли хлопья РГ со средним диаметром 10 мкм и средней толщиной 100 нм и измеряли проводимость пленок композитов. Для достижения порога перколяции было достаточно введения всего 1,3% (об.) наполнителя. В другом исследовании был получен электропроводящий наноккомпозит полиамид-6/графит путем интеркаляции при полимеризации ϵ -капролактама в присутствии расширенного графита [55]. Показано, что полиамид-6 из диэлектрика превращается в полупроводник при содержании наполнителя 0,75% (об.), что существенно ниже, чем это характерно для обычных электропроводящих композитов. Полученные в работе [58] полимеризацией *in situ* стирола с РГ в запаянном сосуде при 150 °С композиты имели порог перколяции при наполнении 1,8% (масс.), при этом проводимость композита резко возрастала. Композит демонстрировал отличную проводимость (10^{-2} См/см) при содержании графита 2,8–3,0% (масс.). В ходе изучения проводимости наноккомпозитов на основе полистирола и полиамида-6 с РГ была использована модель [59], включающая первичные частицы из частиц графита, компактный адсорбированный слой и оболочку. Такая первичная частица является основной проводящей единицей в композитах. Путем полимеризации *in situ* частицы РГ были успешно введены в полиметилметакрилат (ПММА), поливинилхлорид, поли(стирол–метилметакрилат), ароматический полидисульфид и полиметилакриловую кислоту. Получающиеся в результате наноккомпозиты демонстрируют исключительно низкий порог перколяции и высокую электропроводность благодаря высокому значению аспектного отношения (диаметра к толщине) нанопластин графита в полимерной матрице [60–63]. Просвечивающая электронная микроскопия показала хорошую эксфолиацию РГ и однородность распределения нанопластин графита в полученных композициях.

Несмотря на то, что в области полимерных нанокомпозитов с РГ были достигнуты большие успехи, эффективно диспергировать нанопластины графита из РГ довольно затруднительно, особенно в каучуках, так как РГ — частично эксфолиированный графит, в котором нанометровые по толщине графитовые листы все еще связаны друг с другом [64]. Пан с сотрудниками воспользовались преимуществами этой пористой структуры для проведения полимеризации *in situ* мономеров стирола и акрилонитрила внутри пор РГ, который имел коэффициент расширения около 30 [65]. Методом сканирующей электронной микроскопии показано, что РГ-наполнители сохраняют свою пористую структуру в готовых композитах, способствуя отличной проводимости матрицы. С целью улучшить диспергирование РГ Чен с сотрудниками обрабатывали графит ультразвуком, стараясь получить отдельные нанопластины, и затем диспергировали их в ПММА и полистироле путем полимеризации *in situ* [66–68]. Так как каждый нанолит графита содержит еще более тонкие листы с заключенным между ними пространством, мономеры интеркалируют с пустыми полостями, способствуя эксфолиации и диспергированию графита. Композиты поли(4,4'-оксибис(бензол)дисульфид)/нанолиты графита получали в работе [69] путем полимеризации *in situ* с раскрытием цикла олигомеров 4,4'-оксибис(бензол)дисульфида в присутствии графитовых нанопластин при 200 °С. Нанолиты графита в расслоенном состоянии были интеркалированы олигомерами, в композите наблюдалось хорошее диспергирование графита.

Интеркаляционный полимеризационный процесс получения композита полистирол/нанографит схематически показан на рисунке 4.7. Высокое аспектное отношение и хорошая степень дисперсности нанолитов способствуют формированию электропроводящей сетки в полимерной матрице, что приводит к повышенной проводимости по сравнению с обычным порошком графита. Учитывая большое аспектное отношение графитовых нанолитов и удобство диспергирования при использовании полимеризации *in situ*, с этой новой наноструктурой в качестве проводящего модификатора были проведены интенсивные исследования нанокомпозитов полимер/графит. Было показано, что изолированный нанолит графита является отличным нанонаполнителем для получения нанокомпозитов полимер/графит с высокой проводимостью [70–72].



Рис. 4.7. Процесс получения нанокомпозита полистирол/графит. Взято с разрешения из [37]

Помимо бисульфата графита при получении наноккомпозитов полимер/графит возможным прекурсором графитовых нанопластин является графит, интеркалированный калием. В работе [73] при комнатной температуре в течение 3 часов была проведена анионная полимеризация стирола в растворе тетрагидрофурана (ТГФ), содержащего в качестве катализатора и наполнителя систему К–ТГФ–ГИС. В результате были получены наноккомпозиты полистирол/графит с более высокими температурой стеклования и температурой деструкции, чем у чистого полистирола. Порог перколяции этих соединений по проводимости оказался меньше, чем 8,2% (масс.). В другом исследовании [74] наноккомпозиты полистирол/графит получали из паров стирола и графита, интеркалированного калием на разных стадиях. Так, на стадиях I, II, III, IV путем нагревания слоистого графита с калием в запаянной вакуумированной трубке из пирекса в атмосфере гелия в течение 3 дней были приготовлены соединения К–ГИС: КС8, КС24, КС36 и КС48. При выдержке в насыщенных парах стирола интеркаляционные комплексы калия начинают медленно расширяться, в то время как стирол проникает в межслоевые галереи графита. Свободное пространство продолжает увеличиваться и в процессе полимеризации (рис. 4.8). Получаемые наноккомпозиты в виде порошка обеспечивают хорошее диспергирование наполнителя. Это интересный способ достижения хорошей эксфолиации и дисперсности нанопластин графита в полимерной матрице.

Полимеризация *in situ* является эффективным способом улучшения дисперсности и эксфолиации слоистого графита в матрице. С помощью этого метода могут быть получены наноккомпозиты полимер/графит с низким порогом перколяции и высокой проводимостью. Однако данный метод, безусловно, имеет и некоторые недостатки. Например, переработка компаундов включает полимеризацию мономеров, в ходе которой формируются цепи макромолекул, при этом активные центры роста цепей легко могут оказаться закрытыми некоторыми реакционными частицами (такими, как радикалы и ионы), освобождающимися из обрабатываемого графита. Это приводит к снижению молекулярной массы полимеров, расширению их ММР и отрицательно сказывается на механических свойствах образующихся композитов. К тому же очевид-

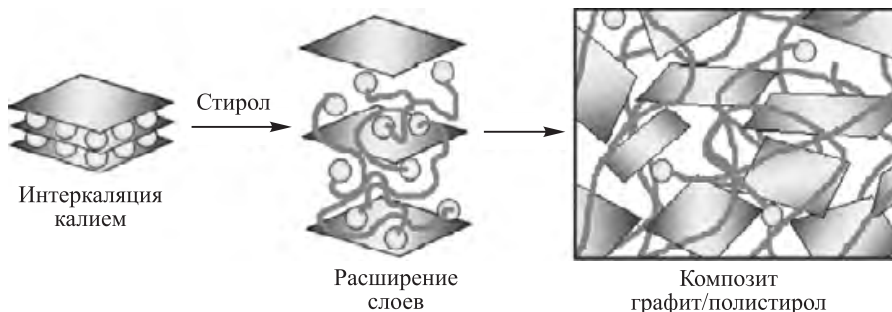


Рис. 4.8. *In situ*-полимеризация стирола в галереях графита, интеркалированных калием. Взято с разрешения из [74]

но, что этот метод получения композитов не подходит для тех случаев, когда мономеры находятся в газообразном состоянии (как в технологии синтеза полиэтилена, полистирола и других крупнотоннажных полимеров). Еще одно существенное ограничение заключается в том, что обычно полимеризация *in situ* требует больших затрат электроэнергии, так как для проведения реакций, эксфолиирования и диспергирования наночастиц графита в процессе переработки обычно необходимо нагревание. Как итог, перечисленные недостатки и ограничения могут оказаться критическими для применения в промышленном масштабе метода полимеризации *in situ* с целью получения нанокомпозитов.

4.3.1.2. Смешение в растворе

Смешение в растворе подразумевает, что диспергирование наполнителя завершается в среде растворителя, в которой растворен полимер. После завершения смешения растворитель удаляют и наполнитель остается в полимере. Обычно за этим следует формование в расплаве, чтобы придать композитной массе нужную форму. Очевидно, метод смешения в растворе имеет ограничение, обусловленное тем, что для растворения конкретной полимерной матрицы подходит не любой растворитель.

В растворе полимерным молекулам легче заполнять поры расширенного графита (РГ) и интеркалироваться в увеличенное межслоевое пространство наноллистов путем физической адсорбции [75]. Этот процесс известен как интеркаляция в растворе, причем полимерами могут быть либо термопласты, либо эластомеры. Вонг с соавторами [76] показали, что для прохождения порога перколяции нанокомпозитов ПММА/РГ при использовании хлороформа в качестве растворителя достаточно всего лишь 1,0% (масс.) РГ. Методом сканирующей электронной микроскопии можно доказать, что введенный в матрицу РГ достигает почти такой же морфологии. Это явление также было описано в работе Шена с соавторами [77]. В проведенном ими синтезе РГ был предварительно диспергирован в ксилоле, затем суспензию по каплям добавляли в раствор полипропилена с привитым малеиновым ангидридом (пПП) в ксилоле, в то время как растворитель находился в состоянии дефлегмации при 130 °С. СЭМ-изображения выявляют идентичность внутренней структуры РГ в матрице и структуры исходного РГ, несмотря на то, что толщина пластин графита несколько уменьшилась после компаундирования.

Для эластомерных матриц интеркаляция в растворе также очень желательна. Джордж с соавторами [78] растворили этиленвинилацетат (ЭВА), содержащий 60% винилацетата, в ТГФ с добавлением пероксида дикумила (отвердитель) и триаллилцианурата (соотвердитель). После добавления суспензии РГ/ТГФ смесь была высушена и подвергнута горячему прессованию для сшивания. Фотографии, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии, показывают тонкую дисперсию наночастиц графита в ЭВА при низких концентрациях наполнителя, в то время как при высоких содержаниях наполнителя (8 м. ч. на 100 м. ч. каучука) наблюдается агломерация. При исполь-

зовании этого метода также проводили синтез с нанолитами графита (ГНЛ). В работе [79] был приготовлен наноккомпозит графита NBR путем смешивания каучукового латекса с ГНЛ в водной среде. При этом получалась намного более тонкая дисперсия наполнителя ГНЛ в каучуковой матрице и более заметная адгезия между графитовыми листами и NBR-матрицей по сравнению с композитом, изготовленным непосредственным смешением ГНЛ и NBR в смесителе. Для смешения жидкого силиконового каучука (СК) с ГНЛ Чен с соавторами [80] в качестве растворителя использовали гексан. В их синтезе однородная дисперсия ГНЛ в СК была получена комбинированием механического перемешивания и ультразвуковой вибрацией.

Позднее при использовании этого подхода были впервые получены композиционные материалы на основе графена, что открыло новые перспективы применения уникальных свойств единичных углеродных листов. Станкович с коллегами [81] вводили индивидуальные графеновые листы в полистирол с применением апротонного растворителя N,N-диметилформамида (ДМФ). Для получения хорошо диспергированной суспензии графена в ДМФ оксид графита сначала был обработан фенилизотиоцианатом, после чего его совместимость с органическими веществами увеличивается. После растворения полистирола в суспензии с целью увеличения проводимости листов оксида графена осуществляли химическое восстановление, затем смесь осаждали добавлением в раствор метанола. Коагуляция графена на стадии восстановления могла быть предотвращена наличием в растворе полимера.

Хотя пластины в РГ в процессе смешения едва ли могут быть разделены на изолированные нанолиты, скорее наоборот — при более высоких концентрациях наполнителя будет наблюдаться существенная агломерация наполнителя, интеркаляция в растворе бесспорно является удобным методом смешения для получения наноккомпозитов после эксфолиации графита. Главное ограничение этого подхода — это необходимость применения больших количеств растворителя и высоких температур для растворения полимеров, что, безусловно, вредит окружающей среде.

4.3.1.3. Смешение в расплаве

Смешение в расплаве является наиболее широко используемым в промышленности способом компаундирования пластмасс, который традиционно выполняется с применением двухшнекового экструдера, оборудования для литья под давлением, вальцев и закрытого резиносмесителя. Этот подход также дает возможность получать графитовые наноккомпозиты (как с термопластами, так и с эластомерами). В исследованиях [82–84] сделано предположение, что смешение, проводимое с мастербатчами (суперконцентраты для окрашивания всех видов пластмасс), всегда дает более интенсивное расслоение хлопьев РГ и улучшенное диспергирование нанолитов по сравнению с простым смешением компонентов системы. К тому же, так как РГ — мягкий материал с рыхлой структурой, то при смешении его с полимерами, например, с такими

как NBR, которые обычно имеют более высокую вязкость на вальцах, удлиненные РГ-частицы могут быть разрушены до более мелких частиц или сжаты в более плотные формы высокими сдвиговыми напряжениями (хотя при этом снижается эффект армирования РГ) [82, 85].

Чен с коллегами модифицировали наноллисты графита сополимера стирола и акрилонитрила (ССА), чтобы ввести наполнитель в полимеры. Приготовленные ГНЛ сначала были покрыты ССА-смолой путем коагуляции ССА из раствора в 2-бутаноне в присутствии ГНЛ. Разработанный мастербатч, содержащий от 70 до 80% (масс.) ГНЛ, затем был смешан с ССА и полиэтиленом высокой плотности (ПЭВП) в одношнековом экструдере. Исследования позволили предположить, что на степень дисперсности ГНЛ в готовом композите сильно повлияла хорошая совместимость нанографита, покрытого ССА, с полимерной матрицей. Совместимость между мастербатчем и полимерной матрицей приводит к значительно более тонкой дисперсии ГНЛ. Если полимерные фазы в композите несовместимы, например, как для системы ПЭВП/ЭВА, в которой две полимерные матрицы сильно отличаются по кристалличности, ГНЛ имеет тенденцию находиться лишь в одной полимерной фазе — в которой межфазное натяжение между ним и матрицей ниже [87].

При использовании немодифицированного графита методом экструзии расплава были также получены усиленные нанокомпозиты полимер/графит, приготовленные из оксида графита, РГ и ГНЛ, которые были химически и термически обработаны перед смешением [88, 89]. Авторы сообщают о получении нанокомпозитов полипропилена смешением гранул полимера и частиц графита в усовершенствованном двухшнековом экструдере с диаметром шнека 25 мм и соотношением длины к диаметру L/D , равным 26. Согласно их данным [88, 89], толщина графитовых слоев в продуктах экструзии составляла менее 10 нм.

Смешение в расплаве — перспективная технология производства больших количеств нанокомпозитов. Этот метод является предпочтительным для многих промышленных целей. Но уверенности в получении гомогенно распределенных нанопластин графита в полимере при использовании существующего оборудования и приспособлений для смешения в расплаве до сих пор нет. Необходимо и далее искать пути улучшения перерабатываемости наносистем полимер/графит, а также дополнительные исследования в направлении модификации поверхностных свойств графита.

4.3.2. Методы исследования свойств

Изучение полимерных нанокомпозитов может быть существенно облегчено, если в арсенале исследователя имеются надежные методы определения их характеристик. Информативные методики оценки крайне важны для получения информации об объемном материале и понимания свойств, присущих полимерным нанокомпозитам. Структурную информацию о синтезированных графитовых композитах можно получить при использовании таких методов, как широкоугольная диф-

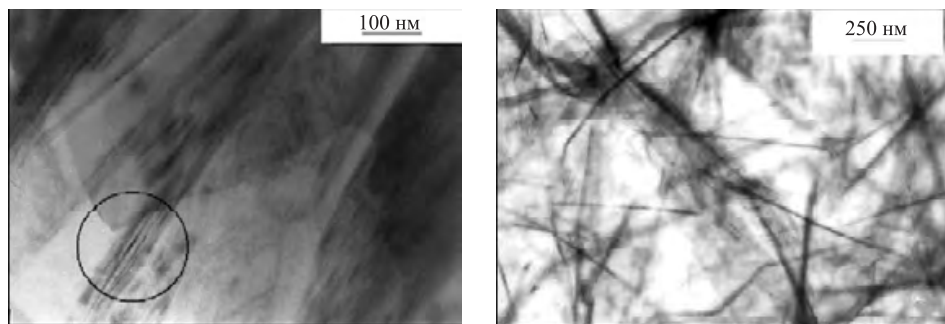


Рис. 4.9. Микрофотографии наноккомпозита полимер/графит, полученные просвечивающей электронной микроскопией. Взято с разрешения из [36]

ракция рентгеновских лучей, малоугловое рентгеновское рассеяние, сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) и просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ).

СЭМ и ПЭМ широко используются для исследования дисперсности и эксфолированного состояния частиц графита, введенных в полимеры. СЭМ позволяет оценить морфологию поверхности веществ, после чего легко сделать вывод о межфазном состоянии системы. Так как поверхность образцов имеет низкую проводимость, перед выполнением исследований методом СЭМ на композит необходимо нанести золотое покрытие. ПЭМ по сравнению с СЭМ является более эффективным методом исследования внутренней структуры композита, кроме того он дает информацию о пространственном распределении разных фаз. Из ПЭМ-изображений можно непосредственно судить о диспергировании или эксфолиации наноструктурированного графита (рис. 4.9). Темная линия, наблюдаемая на микрофотографии при более высоком увеличении (слева), — это лист графита толщиной около 10 нм. Обведенная область слева показывает наличие внутри РГ еще более тонких структур — толщиной примерно от 2 до 5 нм. На этих изображениях хорошо видна проводящая сетка, образованная нанолитами в полимерной матрице.

Дифракция рентгеновских лучей, включающая дифракцию под большими и малыми углами, является наиболее широко используемым методом определения характеристик наноструктур композитов благодаря доступности и простоте. Этот метод дает возможность получения количественной оценки — размеров межслоевого пространства слоистых материалов — в процессе интеркаляции [90]. Метод основан на том, что возрастающая эксфолиация слоистого материала связана с уменьшением интенсивности дифракционного пика от повторяющихся единиц. Например, в наноккомпозитах, содержащих полностью эксфолиированный слоистый монтмориллонит, после интеркаляции острый (001) дифракционный пик монтмориллонита в рентгенографическом образце исчезает [91]. Занг с соавторами [79] опубликовали

анализ результатов широкоугольной дифракции рентгеновских лучей нанокомпозитов NBR/ГНЛ, полученных с применением интеркаляции в растворе. Торкелсон с коллегами также использовали метод широкоугольной дифракции рентгеновских лучей для оценки наноразмерной дисперсности графита в полипропиленовой матрице [89].

Тепловые характеристики (поведение при кристаллизации, определение температуры стеклования и температуры разложения, реологические свойства) и совместимость между разными полимерными фазами нанокомпозитов графита можно оценить с помощью традиционных методов, включающих дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК), термогравиметрический анализ (ТГА), термомеханический анализ (ТМА), динамический механический анализ (ДМА) и реометрию. Например, в работе [92] РГ вводили в термопластичный вулканизат путем компаундирования в расплаве, после чего изучали реологические свойства расплава композитов с использованием реометра с параллельными пластинами. В другой работе [93] для оценки влияния методов смешения на динамический модуль упругости композита силиконовый каучук/РГ применяли ДМА. В исследованиях Пана [65] ТГА использовался для оценки термостабильности нанокомпозитов сополимеров стирола и акрилонитрила с РГ. Чен с коллегами [94] исследование изотермической и неизотермической кристаллизации и поведения при плавлении нанокомпозитов полиамид-6/ГНЛ проводили методом ДСК.

4.3.3. Свойства и перспективы применения

Графит — это твердый электропроводящий материал. При введении наноструктурированных частиц графита в полимер свойства полимеров могут изменяться очень значительно. Ниже приведен обзор работ, посвященных изучению механических, термических и электрических свойств нанокомпозитов полимер/графит.

4.3.3.1. Электрические свойства

Геометрия структуры графита аналогична геометрии силикатных слоев, но графит обладает электропроводностью, которая у глинистых материалов отсутствует. Когда частицы графита хорошо распределены в полимере-диэлектрике, материал может проявлять интересные электрические свойства. В начале 1970-х годов графит вводился в полимерную матрицу для повышения или придания материалу электропроводности [95].

Для детального изучения проводимости электропроводных полимерных композитов интенсивно исследовался переход диэлектрик—проводник. Механизм электропроводности полимерного композита во многом объясняется образованием непрерывной проводящей сетки наполнителя в матрице полимера-диэлектрика. При введении графитового наполнителя проводимость композитов обычно постепенно возрастает с увеличением его содержания. Вначале, при небольшом объем-

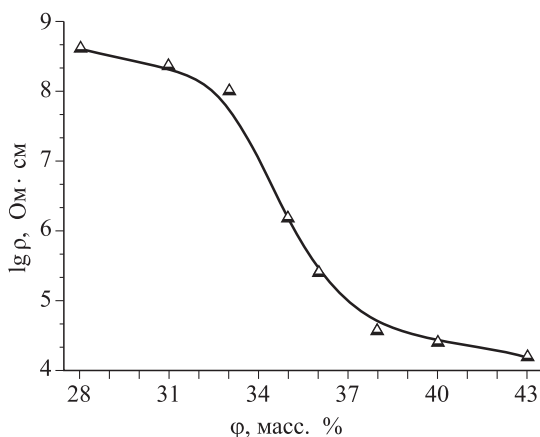


Рис. 4.10. Сопротивление полиэтилена высокой плотности, наполненного графитом, как функция содержания графита. Взято с разрешения из [86]

ном содержании графитовых наполнителей, сопротивление композита близко к сопротивлению исходных полимеров. Когда же концентрация наполнителя достигает определенной величины, начинает формироваться непрерывная проводящая сетка, и полимерный композит проявляет переход от изолятора к проводнику, демонстрируя резкое (на несколько порядков) снижение сопротивления, как показано в качестве типичного примера на рисунке 4.10. Критическая объемная доля проводящих добавок называется порогом перколяции P_c , а переходная характеристика проводящих полимерных композитов известна как явление перколяции. Вблизи от порога перколяции, которому соответствует относительная узкая область концентраций, небольшое увеличение содержания наполнителя приводит к резкому росту проводимости.

Явление перколяции в проводящих композициях, состоящих из матриц-диэлектриков и дисперсных проводящих наполнителей, на самом деле обусловлено нелинейным поведением проводимости как функции содержания наполнителя. Нелинейная проводимость композитов полимер/графит и ранее привлекала внимание исследователей [96–99].

Порог перколяции P_c — критический параметр для определения уровня электропроводности сложной неупорядоченной системы на основе полимеров. В производстве проводящих полимерных композитов важно, чтобы порог перколяции P_c был небольшим. Предпочтительно, чтобы композит достигал требуемой проводимости с как можно меньшим содержанием наполнителя, так как высокая степень наполнения всегда приводит к трудностям при смешении и ухудшает механические свойства композита. Поэтому предпринималось много усилий для снижения порога перколяции графитового наполнителя в полимерной матрице разными путями: изменением эксфолиации и фрагментации частиц графита, оптимизацией технологии смешения и модификацией поверхности графита.

Эксфолиация графита является замечательным способом повышения эффективности усиливающего действия графита. Полимерные композиции, усиленные эксфолиированным графитом, всегда имеют намного меньшее значение P_c , чем обычные композиции с введенными неэксфолиированными порошками графита. В работе [100] показано, что в нанокомпозитах ПЭВП/РГ, приготовленных смешением в расплаве, переход от диэлектрика к проводнику происходит уже примерно при 3 %-м наполнении РГ. Это существенно ниже, чем для композитов, содержащих необработанный графит, которые были получены при тех же условиях переработки (5 масс. %). Преимущества РГ при формировании проводящей сетки в полимерной матрице дают импульс инновационным идеям развития новых полимерных материалов с малым P_c . В последние годы РГ успешно вводился в различные полимерные системы с применением разных способов компаундирования (в основном использовались полиэтилен [101, 102], полипропилен [103, 104], полиамид [105], полистирол [59, 106], ПММА [31, 76, 107] и нейлон [57, 59]).

Наноллисты графита (ГНЛ) также обладает существенными преимуществами при образовании проводящих сеток благодаря большому аспектному отношению. Критическое значение перколяционного перехода может легко быть достигнуто при очень малых количествах ГНЛ. Например, значения P_c для композитов на основе ПЭВП, наполненных ГНЛ (7500 и 2000 меш графита), составили 6, 17 и 19% (масс.) соответственно [108]. Преимущества ГНЛ как проводящего наполнителя также были показаны для силиконового каучука; в этих нанокомпозитных системах значения P_c намного меньше, чем для композитов с введенными фракциями 8000 и 2000 меш графита [38].

Исследования показали, что для распределения эксфолиированного графита (РГ и ГНЛ) в полимерной матрице более эффективны методы полимеризации *in situ* и интеркаляции в растворе. Композиционные материалы, полученные этими двумя методами, демонстрируют намного меньшие значения P_c , чем пороги перколяции соответствующих композитов, полученных прямым смешением в расплаве. Примером являются системы на основе полиэтилена и малеинового ангидрида (привитой ПЭ, пПЭ) — композиты пПЭ/РГ [80]. К тому же композиты, приготовленные смешением в расплаве через мастербатчи, обычно демонстрируют более высокую электропроводность по сравнению с композициями, полученными непосредственным смешением в расплаве [82, 109].

Проводящие свойства композитов полимер/графит могут быть интерпретированы с помощью нескольких теорий, например, перколяционной, туннельной и теории эффективной среды. Чен с сотрудниками [110] получили проводящие композиты на основе ненасыщенной полиэфирной смолы и ГНЛ с низким перколяционным порогом (0,64 об. %) путем полимеризации *in situ* при использовании ультразвукового воздействия. Они обнаружили, что низкая критическая объемная концентрация легко может быть объяснена в рамках теорий среднего поля и исключенного объема, согласно которым активную роль в минимизировании значения

P_c играет морфология ГНЛ (большое аспектное отношение этих наночастиц).

Как упомянуто выше, механизмом электропроводности в компози-тах является образование непрерывной сетки наполнителем, распределенным в полимерной матрице-изоляторе. Проводящая сетка может подвергаться внешнему воздействию или разрушению (температура, давление и растворитель [111]). При исследовании электрического отклика проводящих наноккомпозитов ПММА/РГ после выдержки в парах органических растворителей [112] было обнаружено, что в атмосфере тетрагидрофурана, ДМФ, хлороформа и ацетона электрическая проводимость материала возрастала, в случае хлороформа к тому же наблюдался положительный коэффициент испарения. Чен с соавторами [80] продемонстрировали, что наноккомпозиты на основе силиконового каучука, содержащие 1,3% (об.) ГНЛ, в области порога перколяции проявляют суперположительный коэффициент давления с хорошей воспроизводимостью значений в диапазоне давлений от 0 до 0,8 МПа (рис. 4.11). Экспериментальные результаты можно удовлетворительно трактовать в рамках туннельной модели проводимости, предположив, что при действии внешнего давления перенос заряда в композитах силиконовый каучук/ГНЛ в основном контролируется механизмом туннельной проводимости. В некоторых случаях с увеличением давления сопротивление уменьшается (это явление характеризуют как отрицательный коэффициент давления), например, это наблюдается в системах полиэтилен/ГНЛ и полипропилен/РГ [113, 114]. При постоянстве давления сопротивление композитов менялось в зависимости от времени, что непосредственно связано с деформацией полимерной матрицы, вызванной ползучестью полимерных цепей под действием постоянного давления [113, 115].

В силу зависимости коэффициента объемного расширения полимерной матрицы от температуры проводящие полимерные композиты демонстрируют резкое возрастание электрического сопротивления в точках фазового перехода [116] — явление положительной температуры (ПТ). Материал ГНЛ характеризуется высоким аспектным отношением и поэтому обладает значительным преимуществом над обычным графитом при формировании проводящей сетки в полимерных матрицах. Так как при использовании ГНЛ требуется меньшая степень наполнения для достижения критического порога перколяции, проводящие сетки в полимерной матрице намного легче разрываются в процессе расширения матрицы при определенном температурном воздействии. Таким образом, наноккомпозиты ПЭВП/ГНЛ демонстрируют большую ПТ-интенсивность, которая определяется как отношение максимального сопротивления к сопротивлению при комнатной температуре, по сравнению с композитами на основе ПЭВП, усиленных обычным порошком графита фракцией 2000 меш [117].

Рассмотренные свойства наноккомпозитов полимер/графит являются определяюще важными для широкого диапазона возможных областей их применения. Эти материалы могут использоваться в качестве

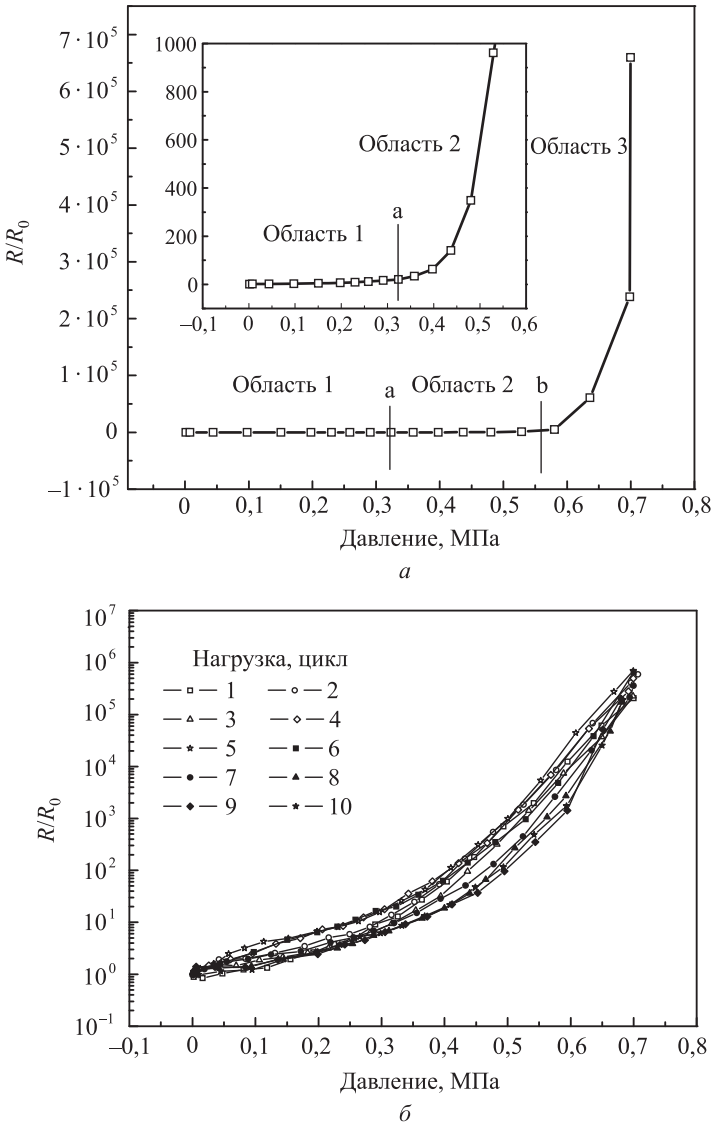


Рис. 4.11. Относительное сопротивление композита силиконовый каучук/ГНЛ с содержанием ГНЛ 1,36% (об.) как функция приложенного давления (а) и его повторяемое пьезорезистивное поведение при циклическом сжатии (б). Взято с разрешения из [80]

датчиков концентрации газа или жидкости, датчиков давления. Композиты как ПТ-материалы могут применяться для изготовления сенсоров температуры и тока, а также служить для определения и контроля параметров, связанных с температурой.

Наноккомпозиты полимер/графит потенциально могут широко применяться как проводящие материалы. Значительные усилия были направлены на улучшение электропроводности графитовых наполнителей для использования этих материалов в качестве защиты от электромагнитных волн и статического электричества, для чего материалы обязательно должны обладать высокой электропроводностью. Ким с коллегами [118] обрабатывали нанопластины графита парами брома, после чего вводили наполнитель в эпоксидную смолу. Было обнаружено, что бромирование приводит к увеличению абсолютных значений электропроводности готовых композитов при содержании наполнителя, превышающем порог перколяции. Увеличение электропроводности графитовых нанопластинок также достигали путем обработки графита ультрафиолетом или озоном, в результате электропроводность композитов на основе эпоксидного олигомера повышалась [119, 120].

В работе [121] ГНЛ покрывали серебром химическим осаждением и получали наполнитель с отличной проводимостью (до 10^6 см^{-1} , что эквивалентно проводимости серебряного порошка).

4.3.3.2. Термические и механические свойства

Термические и механические свойства наноккомпозитов полимер/графит имеют первостепенную важность для применения в промышленных целях, поэтому эти исследования находятся в фокусе внимания. Введение частиц графита в полимеры, конечно, оказывает существенное влияние на механические свойства готовых композитов. Термические свойства очень важны для определения оптимальных условий переработки материала и анализа теплопередачи в материалах в процессе эксплуатации изделий. Фукушима с сотрудниками исследовали теплопроводность наноккомпозитов на основе полиамида-6, полиамида-66 и ПЭВП и РГ, полученных экструзией расплава [50]. Они обнаружили, что композиты с содержанием РГ до 20% (об.) характеризуются теплопроводностью более $4 \text{ Вт/(м} \cdot \text{К)}$, что значительно ниже теплопроводности чистых полимеров. Группа Фенга уделила особое внимание изучению теплопроводности композитов силиконовый каучук/РГ [93]. Они обратили внимание на возрастание теплопроводности наноккомпозитов с увеличением содержания РГ и показали, что для улучшения теплопроводности метод интеркаляции в растворе подходит лучше, чем обычный метод смешения в расплаве. Кроме того, для композитов, полученных интеркаляцией в растворе, наблюдался более высокий модуль упругости. В работе [122] было показано, что прочность при растяжении наноккомпозита на основе графита NBR возрастала на 78% при добавлении РГ в количестве всего лишь 5% (масс.), а модуль упругости увеличивался на 90% и выше. Занг и Маи [79] вводили ГНЛ в NBR для получения каучуковых наноккомпозитов с высокими модулем упругости и прочностью при растяжении и очень высокой теплопроводностью. Помимо повышенной термостабильности у термопластов также наблюдалось возрастание прочности при растяжении, рост модуля упругости и теплопроводности [73, 123]. Например, при добавлении

4% (масс.) РГ в этиленвинилацетат прочность при растяжении и модуль при 100%-м удлинении возросли на 35% и 150% соответственно, а температура максимальной скорости разложения сместилась на 14 °C в сторону более высоких температур [78]. Межфазное взаимодействие между нанопластинами графита и матрицей влияет на температуру стеклования нанокомпозитов полимер/графит из-за снижения подвижности сегментов макромолекул вблизи твердой поверхности [120]. Примером является повышение температуры перехода на 5 °C при введении наноструктурированного графита в полистирол [73]. Горючесть полимерных материалов — также важная характеристика, не принятие которой в расчет может привести к нежелательным последствиям. Чуанг с соавторами [51] исследовали влияние РГ на дымообразование и горючесть этиленпропилендиенового терполимера. Они показали, что РГ является эффективным замедлителем горения и добавкой, подавляющей дымообразование в полимерных компаундах.

4.4. Заключение

Из обзора приведенных исследований можно сделать вывод о возможности значительного улучшения механических и мультифункциональных свойств полимеров (как термопластов, так и реактопластов) при использовании нового нанонаполнителя — нанопластин графита. Нанокомпозиты полимер/графит уже сейчас занимают достойное место на рынке продуктов и имеют огромный потенциал для применения в разных областях благодаря своим исключительным свойствам. Но есть и сдерживающие факторы, важнейшими из которых являются недостаточная эффективность технологий производства и переработки композитов для полной эксфолиации и диспергирования графитовых частиц в полимерной матрице, особенно в промышленных масштабах, и дороговизна этого наполнителя. В настоящее время сложно получить графитовые нанокомпозиты с достаточным расслоением и диспергированием частиц при использовании традиционного метода смешения в расплаве. Таким образом, необходимо уделить особое внимание разработке новых устройств смешения для производства нанокомпозитов на промышленном уровне. Более того, с точки зрения механизма интеркаляции в графите расстояние между соседними углеродными слоями составляет всего лишь 0,335 нм, в силу чего это пространство не может быть интеркалировано полимерными макромолекулами при переработке через расплав. Хорошо, что это ограничение может быть преодолено разработкой технологии получения графена — монослоем графита на атомном уровне, который является очень многообещающим материалом в качестве проводящего нанонаполнителя в пластиках с высокими эксплуатационными характеристиками, хотя, по-видимому, промышленное производство графена появится не ранее, чем через десятилетие.

Графит безвреден и биосовместим. Он широко используется в качестве смазочного и электропроводящего материала во многих областях (аэрокосмической промышленности, производство ионных батарей

и т. д.). Кроме того, есть работы, в которых оксид графита вводили в силиконовый каучук с целью получить наноккомпозиты с новыми антикоагуляционными свойствами, при этом наблюдали хорошую механическую прочность, биосовместимость и совместимость с кровью в течение длительного времени [124]. Отличная биосовместимость и высокая инертность делают графитовые материалы привлекательными для применения в качестве биоматериалов, например в сердечных клапанах и медицинских перевязочных материалах [125, 126].

Очевидно, применение наноструктурированного графита в промышленности и различных областях, связанных с полимерными материалами, сулит выгоду — для его переработки подходят доступные технологии получения композитов. Однако изменение масштаба графита (от микро- до наноуровня) приводит к новым проблемам. Главной проблемой является трудность достижения полной эксфолиации частиц графита. К тому же из-за сильной тенденции частиц графита к агрегации довольно сложно получить однородную дисперсию в полимере. Для исследования этих перспективных полимерных наноккомпозитов и использования их новых свойств очень важно проведение глубоких исследований, касающихся фундаментальных аспектов, включая разработку новых технологий компаундирования, оптимизацию совместимости между графитом и полимером и модификацию поверхности.

Благодарность

Авторы благодарят за поддержку Национальный фонд естественных наук Китая (NO.50373015, 20574025).

Литература

1. Ohe, K. and Naito, Y., *Jpn. J. Appl. Phys.*, 1971, 10: 99–108.
2. Squire, E., *Br. Plast. Rubber*, 1984, 35: 37–38.
3. Delvigs, P., *Polym. Compos.*, 1989, 10(2): 134–139.
4. Zhou, J. and Lucas, J.P., *J. Thermoplast. Compos. Mater.*, 1996, 9(4): 316–328.
5. Busick, D.N., Spontak, R.J., and Balik, C.M., *Polymer*, 1999, 40(22): 6023–6029.
6. Zheng, Q., Song, Y., Wu, G., and Yi, X. *J. Polym. Sci. Part B*, 2001, 39(15): 2833–2842.
7. Zheng, W.G., Wong, S.C., and Sue, H.J., *Polymer*, 2002, 43(25): 6767–6773.
8. Krupa, I., Novak, I., and Chodak, I. *Synth. Met.*, 2004, 145(2–3): 245–252.
9. Li, J. and Kim, J.K. *Compos. Sci. Technol.*, 2007, 67(10): 2114–2120.

10. Du, X.S., Yu, Z.Z., Dasari, A., Ma, J., Mo, M.S., Meng, Y.Z., and Mai, Y.W. *Chem. Mater.*, 2008, 20(6): 2066–2068.
11. Bourdo, S.E. and Viswanathan, T. *Carbon*, 2005, 43(14): 2983–2988.
12. Bourdo, S., Li, Z.R., Biris, A.S., Watanabe, F., Viswanathan, T., and Pavel, I. *Adv. Funct. Mater.*, 2008, 18(3): 432–440.
13. Li, W., Johnson, C.L., and Wang, H.L., *Polymer*, 2004, 45(14): 4769–4775.
14. Gilje, S., Hughes, J., Belicieu, M., Choi, O., Hahn, H.T., and Kaner, R.B. In: *International SAMPE Symposium and Exhibition (Proceedings)*, v51, *SAMPE 2006 Conference Proceedings — 2006*, p. 15.
15. Heo, S.I., Yun, J.C., Oh, K.S., and Han, K.S., *Adv. Compos. Mater. Off. J. Jpn. Soc. Compos. Mater.*, 2006, 15(1): 115–126.
16. Nagata, Kazuya, Iwabuki, Hitoshi, Nigo, and Hideyuki. *Compos. Interf.*, 1999, 6(5): 483–495.
17. Shiro, N., Katsuzo, O., and Toshio, K., *Trans. Jpn. Soc. Mech. Eng. Part C.*, 1994, 60(572): 1376–1381.
18. Yang, J., Tian, M., Jia, Q.X, Zhang, L.Q., and Li, X.L., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2006, 102: 4007–4015.
19. Stair, W.K. *Handbook of Lubrication (Tribology)*, Vol. II: *Dynamic Seals*, Booser, E.R., Ed., CRC Press: Boca Raton, FL, 1983, pp. 581–622.
20. Schweitz, J.A. and Ahman, L., *Friction and Wear of Polymer Composites*, Fredrich, K., Ed., Elsevier: Amsterdam, 1986, Chapter 9.
21. Zhang, W., Dehghani-Sani, A.A., and Blackburn, R.S., *J. Mater. Sci.*, 2007, 42 (10): 3408–3418.
22. Thostenson, E., Li, C., and Chou, T., *Comp. Sci. Techn.*, 2005, 65: 491–516.
23. Fukushima, H., Drzal, L.T., Rook, B.P., and Rich, M.J., *J. Therm. Anal. Calor.*, 2006, 85(1): 235–238.
24. Stankovich, S., Dikin, D.A., Dommett, G.B., Kohlhaas, K.M., Zimney, E.J., Stach, E.A., Piner, R.D., Nguyen, S.T., and Ruoff, R.S., *Nature*, 2006, 442(20): 282–286.
25. Hussain, F., Hojjati, M., Okamoto, M., and Gorga, R.E., *J. Compos. Mater.*, 2006, 40 (17): 511–575.
26. Krueger, Q.J. and King, J.A., *Adv. Polym. Technol.*, 2003, 22(2): 96–111.
27. Li, J., Sham, M.L., Kim, J.K., and Marom, G., *Comp. Sci. Techn.*, 2006, 67(2): 296–305.
28. Nishimura, T., *MaKromol. Chem., Rapid. Commun.* 1980, 1: 573–579.
29. Shioyama, H. and Fujii, R., *Carbon*, 1987, 25(6): 771–774.
30. Chen, G.H., Weng, W.G., Wu, D.J., and Wu, C.L., *Eur. Polym. J.*, 2003, 39: 2329–2335.
31. Celzard, A., Mcrae, E., Mareche, J.F., Furdin, G., Dufort, M., and Deleuze, C. *Phys. Chem. Solids*, 1996, 57: 715–718.

32. Zheng, W. and Wong, S.C., *Compos. Sci. Technol.*, 2003, 63: 225–235.
33. Wang, W.P., Pan, C.Y., and Wu, J.S. *J. Phys. Chem. Solids*, 2005, 66(10): 1695–1700.
34. Xiao, P., Xiao, M., and Gong, K., *Polymer*, 2001, 42: 4813–4816.
35. Chen, G.H., Wu, D.J., Weng, W.G., and Yan, W.L., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2001, 82: 2506–2513.
36. Chen, G.H., Wu, D.J., Weng, W.G., and Wu, C.L., *Carbon*, 2003, 41(3): 619–621.
37. Chen, G.H., Wu, C.L., Weng, W.G., Wu, D.J., and Yan, W.L., *Polymer*, 2003, 44(6): 1781–1784.
38. Chen, G.H., Weng, W.G., Wu, D.J., and Wu, C.L., *Eur. Polym. J.*, 2003, 39: 2329–2335.
39. Novoselov, K.S., Geim, A.K., Morozov, S.V., Jiang, D., Zhang, Y., Dubonos, S.V., Grigorieva, I.V., and Firsov, A.A., *Science*, 2004, 306: 666–669.
40. Stankovich, S., Dikin, D.A., Piner, R.D., Kohlhaas, K.A., Kleinhammes, A., Jia, Y., Wu, Y., Nguyen, S.T., and Ruoff, R.S., *Carbon*, 2007, 45: 1558–1565.
41. Gilje, S., Han, S., Wang, M., Wang, K.L., and Kaner, R.B., *Nano. Lett.*, 2007, 7(11): 3394–3398.
42. Stankovich, S., Dikin, D.A., Dommett, G.B., Kohlhaas, K.M., Zimney, E.J., Stach, E.A., Piner, R.D., Nguyen, S.T., and Ruoff, R.S., *Nature*, 2006, 442(20): 282–286.
43. Li, D., Muller, M.B., Gilje, S., Kaner, R.B., and Wallace, G.G., *Nat. Nanotechnol.*, 2008, 3: 101–105.
44. Kalaitzidou, K., Fukushima, H., and Drzal, L.T., *Compos. Sci. Technol.*, 2007, 67(10): 2045–2051.
45. Yang, J., Tian, M., Jia, Q.X., Zhang, L.Q., and Li, X.L., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2006, 102: 4007–4015.
46. Pramanik, P.K., Khastgir, D., and Saha, T.N., *J. Elastomers Plast.*, 1991, 23(4): 345–361.
47. Foy, J.V. and Lindt, J.T. *Polym. Compos.*, 1987, 8(6): 419–426.
48. Hussain, M., Choa, Y.H., and Niihara, K., *Scripta. Mater.*, 2001, 44(8–9): 1203–1206.
49. Todorova, Z., El-Tantawy, F., Dishovsky, N., and Dimitrov, R., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, 103: 2158–2165.
50. Fukushima, H., Drzal, L.T., Rook, B.P., and Rich, M.J., *J. Therm. Anal. Calor.*, 2006, 85(1): 235–238.
51. Chuang, T.H., Chern, C.K., and Guo, W.J., *J. Polym. Res.*, 1997, 4(3): 153–158.
52. Litt, M.H. and Brinkmann, A.W., *J. Elastoplast.*, 1973 (5): 153–160.
53. Serafini, T.T., Delvigs, P., and Vannucci, R.D., *In: Society of the Plastics Industry, Reinforced Plastics/Composites Institute, Annual Conference, Proceedings–1974*, p. 6.

54. Chung, D.D.L., Composites of *in situ* exfoliated graphite. U.S. patent, 4946892, 1990.
55. Martin, C.A., Sandler, J.K.W., Shaffer, M.S.P., Schwarz, M.K., Bauhofer, W., Schulte, K., and Windle, A.H., *Comp. Sci. Techn.*, 2004, 64(15): 2309–2316.
56. Celzard, A., McRae, E., Mareche, J.F., Furdin, G., Dufort, M., and Deleuze, C., *J. Phys. Chem. Solids*, 1996, 57(6–8): 715–718.
57. Pan, Y.X., Yu, Z.Z., Ou, Y.C., and Hu, G.H., *J. Polym. Sci. Part B*, 2000, 38(12): 1626–1633.
58. Chen, G.H., Wu, D.J., Weng, W.G., He, B., and Yan, W.L., *Polym. Int.*, 2001, 50: 980–985.
59. Zou, J.F., Yu, Z.Z., Pan, Y.X., Fang, X.P., and Ou, Y.C., *J. Polym. Sci. Part B*, 2002, 40(10): 954–963.
60. Chen, G.H., Wu, D.J., Weng, W.G., and Yan, W.L., *Polym. Eng. Sci.*, 2001, 41(12): 2148–2154.
61. Chen, G.H., Wu, D.J., Weng, W.G., and Yan, W.L., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2001, 82: 2506–2513.
62. Song, L.N., Xiao, M., and Meng, Y.Z., *Compos. Sci. Technol.*, 2006, 66(13): 2156–2162.
63. Li, L.W., Luo, Y.L., and Li, Z.Q., *Smart. Mater. Struct.*, 2007, 16(5): 1570–1574.
64. Weng, W.G., Chen, G.H., Wu, D.J., Chen, X.F., Lu, J.R., and Wang, P.P., *J. Polym. Sci., Part B*, 2004, 42: 2844–2856.
65. Zheng, G.H., Wu, J.D., Wang, W.P., and Pan, C.Y., *Carbon*, 2004, 42(14): 2839–2847.
66. Chen, G.H., Wu, D.J., Weng, W.G., and Wu, C.L., *Carbon*, 2003, 41: 619–621.
67. Chen, G.H., Weng, W.G., Wu, D.J., and Wu, C.L., *Eur. Polym. J.*, 2003, 39(12): 2329–2335.
68. Chen, G.H., Wu, C.L., Weng, W.G., Wu, D.J., and Yan, W.L., *Polymer*, 2003, 44(6): 1781–1784.
69. Du, X.S., Xiao, M., Meng, Y.Z., and Hay, A.S., *Polymer*, 2004, 45(19): 6713–6718.
70. Chen, G.H., Weng, W.G., Wu, D.J., and Wu, C.L., *J. Polym. Sci. Part B*, 2004, 42: 155–167.
71. Mo, Z.L., Zuo, D.D., Chen, H., Sun, Y.X., and Zhang, P., *Chinese J. Inorg. Chem.*, 2007, 23(2): 265–269.
72. Mo, Z.L., Sun, Y.X., Chen, H., Zhang, P., Zuo, D.D., Liu, Y.Z., and Li, H.J., *Polymer*, 2005, 46(26): 12670–12676.
73. Xiao, M., Sun, L., Liu, J., Li, Y., and Gong, K., *Polymer*, 2002, 43(8): 2245–2248.
74. Kim, H., Hahn, H.T., Viculis, L.M., Gilje, S., and Kaner, R.B., *Carbon*, 2007, 45(7): 1578–1582.

75. Kotov, N.A., Dekany, I., and Fendler, J.H., *Adv. Mater.*, 1996, 8: 637–641.
76. Zheng, W., Wong, S.H., and Sueb, H.J., *Polymer*, 2002, 73: 6767–6773.
77. Shen, J.W., Chen, X.M., and Huang, W.Y., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2003, 88: 1864–1869.
78. George, J.J. and Bhowmick, A.K., *J. Mater. Sci.*, 2008, 43(1): 702–708.
79. Yang, J., Tian, M., Jia, Q.X., Shi, J.H., Zhang, L.Q., Lim, S.H., Yu, Z.Z., and Mai, Y.W., *Acta. Mater.*, 2007, 55: 6372–6382.
80. Chen, L., Chen, G.H., and Lu, L., *Adv. Funct. Mater.*, 2007, 17(6): 898–904.
81. Stankovich, S., Dikin, D.A., Dommett, G.B., Kohlhaas, K.M., Zimney, E.J., Stach, E.A., Piner, R.D., Nguyen, S.T., and Ruoff, R.S., *Nature*, 2006, 442(20): 282–286.
82. Shen, J.W., Huang, W.Y., Zuo, S.W., and Hou, J., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2005, 97(1): 51–59.
83. She, Y.H., Chen, G.H., and Wu, D.J., *Polym. Int.*, 2007, 56: 679–685.
84. Li, Y.C. and Chen, G.H., *Polym. Eng. Sci.*, 2007, 47: 882–888.
85. Yang, J., Tian, M., Jia, Q.X., Zhang, L.Q., and Li, X.L., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2006, 102: 4007–4015.
86. Chen, G.H., Chen, X.F., Wang, H.Q., and Wu, D.J., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, 103: 3470–3475.
87. Chen, G.H., Lu, J.R., and Wu, D.J., *Mater. Chem. Phys.*, 2007, 104: 240–243.
88. Furgiele, N., Lebovitz, A.H., Khait, K., and Torkelson, J.M., *Macromolecules*, 2000, 33(2): 225–228.
89. Wakabayashi, K., Pierre, C., Dikin, D.A., Ruoff, R.S., Ramanathan, T., Brinson, L.C., and Torkelson, J.M., *Macromolecules*, 2008, 41: 1905–1908.
90. Yano, K., Usuki, A., Okada, A., Kurauchi, T., and Kamigaito, O., *Polym. Prep. (Jpn)*, 1991, 32(1): 65.
91. Chen, G.H., Chen, X.Q., Lin, Z.Y., and Ye, W.L., *J. Mater. Sci. Lett.*, 1999, 18: 1761–1763.
92. Katbab, A.A., Hrymak, A.N., and Kasmadjian, K., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2008, 107: 3425–3433.
93. Mu, Q. and Feng, S., *Thermochim. Acta.*, 2007, 462: 70–75.
94. Weng, W.G., Chen, G.H., and Wu, D.J., *Polymer*, 2003, 44: 8119–8132.
95. Ohe, K. and Naito, Y., *Jpn. J. Appl. Phys.* 1971, 10: 99–108.
96. Lin, H.F., Lu, W., and Chen, G.H., *Physica B*, 2007, 400: 229–236.
97. Chen, G.H., Weng, W.G., Wu, D.J., and Wu, C.L., *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 2004, 42: 155–167.

98. Kannarpady, G.K., Mohan, B., and Bhattacharyya, A., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, 106(1): 293–298.
99. Srivastava, N.K., Sachdev, V.K., and Mehra, R.M. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, 104(3): 2027–2033.
100. Zheng, W., Lu, X.H., and Wong, S.C., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2003, 91(5): 2781–2788.
101. Yang, Y.F. and Liu, M.J. *China Plast.*, 2002, 16(10): 46–48.
102. Weng, W.G., Chen, G.H., Wu, D.J., and Yan, W.L., *Compos. Interface.*, 2004, 11(12): 131–143.
103. Semko, L.S., Popov, R.E., and Chernysh, I.G., *Plasticheskie Massy*, 1996, 6: 22–25.
104. Chen, X.M., Shen, J.W., and Huang, W.Y., *J. Mater. Sci. Lett.*, 2002, 21(3): 213–214.
105. Uhl, F.M., Yao, Q., Nakajima, H., Manias, E., and Wilkie, C.A., *Polym. Degrad. Stabil.* 2005, 89(1): 70–84.
106. Wang, W.P. and Pan, C.Y., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2003, 41(17): 2715–2721.
107. Wang, W.P., Liu, Y., Li, X.X., and You, Y.Z. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2006, 100(2): 1427–1431.
108. Lu, J.R., Weng, W.G., Chen, X.F., Wu, D.J., Wu, C.L., and Chen, G.H., *Adv. Funct. Mater.*, 2005, 15: 1358–1363.
109. Zhang, M., Li, D.J., Wu, D.F., Yan, C.H., Lu, P., and Qiu, G.M., *J. Appl. Polym. Sci.*, 2008, 108(3): 1482–1489.
110. Lu, W., Lin, H.F., Wu, D.J., and Chen, G.H., *Polymer*, 2006, 47: 4440–4444.
111. Lundberg, B. and Sundqvist, B. *J. Appl. Phys.*, 1986, 60(3): 1074–1079.
112. Li, L.W., Luo, Y.L., and Li, Z.Q., *Smart. Mater. Struct.*, 2007, 16(5): 1570–1574.
113. Qu, S.Y. and Wong, S.C. *Compos. Sci. Technol.* 2007, 67(2): 231–237.
114. Lu, J.R., Chen, X.F., Lu, W., and Chen, G.H., *Eur. Polym. J.*, 2006, 42(5): 1015–1021.
115. Chen, G.H., Lu, J.R., Lu, W., Wu, D.J., and Wu, C.L., *Polym. Int.*, 2005, 54: 1689–1693.
116. Fournier, J., Boiteux, G., and Seyter, G., *J. Mater. Sci. Lett.*, 1997, 16: 1677–1679.
117. Chen, G.H., Lu, J.R., and Wu, D.J., *J. Mater. Sci.*, 2005, 40(18): 5041–5043.
118. Li, J., Vaisman, L., Marom, G., and Kim, J.K. *Carbon*, 2007, 45(4): 744–750.
119. Li, J., Kim, J.K., Sham, M.L., *Scripta Mater.*, 2005, 53(2): 235–240.
120. Li, J., Sham, M.L., Kim, J.K., and Marom, G. *Compos. Sci. Technol.*, 2007, 67(2): 296–305.

121. Sun, W.F., Chen, G.H., and Zheng, L.L., *Scripta Mater.*, 2008, 59: 1031–1034.
122. Liu, D.W., Du, X.S., and Meng, Y.Z., *Polym. Polym. Compos.*, 2005, 13(8): 815–821.
123. Uhl, F.M. and Wilkie, C.A., *Polym. Degrad. Stabil.*, 2002, 76(1): 111–122.
124. Chen, Y.H., Zhou, N.L., Meng, N., Hang, Y.X., Gao, N.X., Li, L., Zhang, J., Wei, S.H., and Shen, J., *Funct. Mater.*, 2007, 38(3): 438–440.
125. Chen, L., Lu, L., Wu, D.J., and Chen, G.H. *Polym. Comp.*, 2007, 28: 493–498.

ГОРЮЧЕСТЬ И ОГНЕСТОЙКОСТЬ ПОЛИМЕРНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ

Александр Б. Морган

*Исследовательский институт
Университета Дейтона, Огайо, США*

5.1. Введение

Область научных исследований, связанных с полимерными нанокompозитами, значительно расширилась с тех пор, как 15 лет назад были опубликованы первые статьи об этих материалах. Однако некоторые направления данной сферы исследований имеют более давнюю историю. В первых публикациях исследовательской группы компании Toyota Research and Development, появившихся в начале 1990-х гг., нанокompозиты полиамида-6 называли «гибридами» [1, 2], а впервые термин «нанокompозит» стал использоваться в статьях Джианнелиса [3, 4] и Пиннавайи [5, 6] в середине 1990-х гг. Исследования в этой области значительно активизировались после того, как стало понятно, что неорганические частицы нанометрового размера можно диспергировать в полимерной матрице, тем самым достигая улучшенных по сравнению с традиционными композитами свойств материала. Полимерным нанокompозитам и их свойствам посвящено громадное количество книг и обзоров [7–12], включая и этот сборник, что совсем не удивительно из-за многофункциональности этих соединений. Наночастицы не просто увеличивают прочность полимеров на «наноуровне», они полностью изменяют и часто улучшают свойства материала в целом. Это касается также тепловых, электрических, оптических свойств, газопроницаемости и горючести. Последнее свойство и будет рассмотрено в этой главе, мы увидим, каким образом наночастицы улучшают огнеупорные свойства композитов. Кроме того, в главе сделан прогноз направлений интенсивного развития исследований в этой области на ближайшие 5–10 лет.

Прежде чем начать обсуждение возможностей этих материалов, необходимо кратко остановиться на основных особенностях горючести полимерных нанокompозитов. Хотя термин «нанокompозиты» стал использоваться в исследованиях в области полимеров сравнительно недавно, прием включения наночастиц в состав полимеров совсем не нов. Например, углеродную сажу (размер частиц которой составляет несколько нанометров) давно добавляют в резину для автопокрышек, а слоистые силикаты (глины) уже много лет включают в состав красок для изменения их реологических свойств. Просто эти известные материалы никто не воспринимал в качестве нанокompози-

тов (полимер плюс система наночастиц), но они демонстрировали те же свойства, которые характерны и современным наноконпозиционным материалам. Одна из первых работ по усилению термостойкости полимера за счет включения наночастиц (слоистых силикатов) была выполнена Блюмштейном в 1960-х гг. — система с высоким содержанием монтмориллонита* и низким содержанием полимера оказалась весьма термостойкой [13–22]. Основным свойством гибридов глины и полимера было значительное повышение температуры, при которой эти материалы начинали разлагаться. Блюмштейн предположил, что полимер, проникший между пластинками глины, оказывается защищенным от разложения при нагревании. Такие результаты уже указывали на улучшенные огнеупорные свойства полимерных наноконпозитов.

Позднее, в патентах 1980-х гг., было показано, что небольшие добавки глины к полимерным материалам снижают текучесть полимеров в пламени [23, 24]. Эти ранние работы были в значительной степени забыты, пока Джилманлис в сотрудничестве с Джилманом, а также другие исследователи из Национального института стандартов и технологии США [25, 26] не обнаружили, что гибриды полимеров и глины при воздействии пламени образуют больше угля, в вертикальном пламени обладают меньшей текучестью и, согласно данным измерений с помощью конического калориметра, выделяли значительно меньше тепла [27, 28]. Из результатов следовало, что материалы, которые на тот момент уже называли полимерными наноконпозитами, имели еще одно важное свойство — огнестойкость. Такие наноконпозиты не только отличались повышенной термостойкостью, но при поджоге горели медленнее и выделяли меньше тепла, что делало их потенциально пригодными для использования в качестве огнеупорных материалов.

С этого момента (конец 1999 — начало 2000 гг.) число исследований горючести полимерных наноконпозитов резко возросло. Основные работы в данной области проводятся в Национальном институте стандартов и технологии США под руководством Джефа Джилмана, а также в университетской среде, в частности в лаборатории профессора Чарльза Уилки (Университет Маркетта, Милуоки, штат Висконсин). Комбинированием полимерных наноконпозитов с другими огнеупорными материалами занимаются в лабораториях профессора Сержа Бурбиго (Университет Лилля, Франция) и профессора Джованни Камино (Туринский университет, Италия).

На сегодняшний день снижение горючести полимерных наноконпозитов было продемонстрировано для многих полимерных систем и практически всех типов нанонаполнителей — от слоистых силикатов до углеродных нанотрубок или нановолокон и коллоидных наночастиц. С большинством результатов этих работ можно ознакомиться

* Монтмориллонит — глинистый минерал подкласса слоистых силикатов; слово происходит от названия места Монтморийон во Франции, где этот минерал впервые был открыт. — *Прим. перев.*

в свежих книгах и обзорах [29, 30], а целью данной главы является обобщение состояния исследований в этой области на настоящий момент и объяснение причин, почему полимерные нанокомпозиты могут снижать горючесть и использоваться в качестве огнеупорных материалов.

5.2. Горючесть полимерных нанокомпозитов

Как было сказано выше, полимерные нанокомпозиты отличаются от традиционных композиционных материалов и даже микрокомпозитов (полимеров с наполнителями микрометрового размера) меньшей горючестью. На самом деле, предшественники наночастиц, которые включали в структуру полимерных нанокомпозитов, обычно представляли собой микрочастицы, и если они не были диспергированы надлежащим образом в полимерной матрице, то образовывались не нано-, а микрокомпозиты. Если ничего не предпринимать, наночастицы будут слипаться с образованием микрочастиц, которые часто разрушаются еще до включения в полимер или же в процессе включения, так что нанокомпозит просто не успевает сформироваться. В случае слоистых силикатов, таких как глины, эти первичные частицы называют тактоидами, и если тактоиды не разрушаются, после их включения никакого уменьшения горючести полимера не происходит. В таком случае агрегаты частиц глины выступают в роли традиционных наполнителей, и возможное снижение горючести связано лишь с заменой легкогорючего полимера на негорючий компонент, т. е. горючесть микрокомпозитов снижается просто в результате уменьшения общего количества «горючего». Из проведенного сопоставления свойств микро- и нанокомпозитов следует вывод, что снижение текучести и горючести свойственно только полимерным нанокомпозитам, но не микрокомпозитам, и поэтому каждый специалист, занимающийся созданием огнеупорных материалов, должен уделять особое внимание процессу синтеза нанокомпозита. Если к полимерной матрице просто добавить какие-то наночастицы, не факт, что в результате получается нанокомпозит. Для успешного образования нанокомпозита важно учитывать свойства поверхности наночастиц, условия обработки полимера и требования к структуре нанокомпозита. В данной главе мы не будем подробно останавливаться на обсуждении синтеза нанокомпозитов, поскольку этому вопросу посвящены другие главы этой книги, однако сделаем некоторые комментарии по поводу дисперсности, поверхностных свойств и подготовки наночастиц, поскольку эти факторы влияют на горючесть конечных продуктов и на огнеупорные свойства полимерных нанокомпозитов.

В следующих разделах мы рассмотрим горючесть полимерных нанокомпозитов, полученных путем включения наночастиц трех категорий: слоистых материалов, нановолокон и нанотрубок, а также коллоидных наночастиц.

5.2.1 Горючесть слоистых нанокомпозитов

Композиты на основе слоистых наночастиц — наиболее глубоко изученный и подробно описанный класс полимерных нанокомпозитов, в том числе относительно горючести и механизма огнеупорного действия. В этот класс материалов входят природные слоистые силикаты (глины), такие как монтмориллонит, а также синтетические слоистые силикаты, например, фторированная синтетическая слюда. Проведены исследования горючести систем, содержащих двухслойные гидроксиды, графит и оксид графита [31–34].

Слоистые нанокомпозиты обычно разделяют по степени дисперсности наночастиц на микрокомпозиты, интеркалированные системы и расслоенные нанокомпозиты.

Микрокомпозиты представляют собой слоистые материалы, в которых агрегаты наночастиц не разделены на отдельные наночастицы, а остаются в виде исходных тактоидов. Такие системы иногда называют несмешиваемыми нанокомпозитами; слоистый материал (нанопластины) образует в полимерной матрице агрегаты микрометрового размера, и система разделяется на фазы.

В *интеркалированных системах* молекулярные цепочки полимера встраиваются (интеркалируют) в пространство между слоями наночастиц (силикатов, двухслойных гидроксидов, графита или других материалов). Исходные тактоиды разрушаются не полностью (по-прежнему сохраняются протяженные агрегаты), но каждый слой наночастиц теперь отделен слоем полимера, хотя полная дисперсность слоистого материала в матрице все же не достигается. Обычно интеркаляция представляет собой первый шаг на пути к расслаиванию, и иногда в полимерных нанокомпозитах можно одновременно обнаружить как интеркалированные, так и расслоенные структуры.

К категории *расслоенных нанокомпозитов* относятся структуры, в которых отдельные элементы слоистой структуры полностью окружены полимером, причем во многих случаях исчезают даже протяженные фрагменты тактоидов. Таким образом, расслоенные нанокомпозиты можно отнести одновременно к двум категориям — к упорядоченным и к неупорядоченным структурам. Расслоенные структуры (и в упорядоченном, и в неупорядоченном виде) получить труднее всего, и их определение часто бывает субъективным [35–37]. Одни исследователи считают, что наличие в полимерной матрице двух- или трехслойных фрагментов наночастиц — признак расслоения, тогда как другие полагают, что критерием расслоения является присутствие в системе исключительно однослойных фрагментов.

Схематично эти основные структуры представлены на рисунке 5.1, на котором прямые линии соответствуют слоистым структурам, а волнистые линии изображают молекулярные цепочки полимера.

Для достижения сколь-нибудь значительного уменьшения горючести нанокомпозит должен иметь интеркалированную, интеркалированную плюс расслоенную или расслоенную (упорядоченную или неупорядоченную)

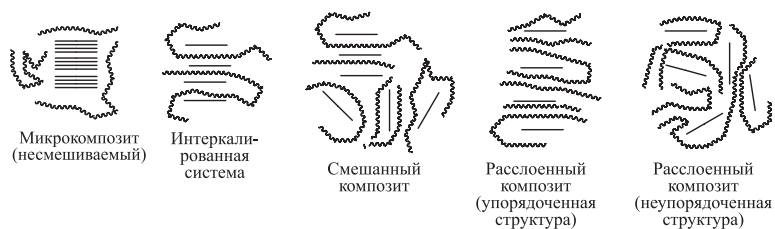


Рис. 5.1. Структуры полимерных нанокомпозитов на основе слоистых наноматериалов

доченную) структуру. Если система содержит микровключения, как отмечалось в начале раздела, снижение горючести происходит исключительно за счет простого эффекта разбавления в результате включения неорганического наполнителя. Обычно это аддитивный эффект. Так, если микрокомпозит был получен в результате добавления к полимеру 5% монтмориллонита, скорее всего, при горении следует ожидать 5%-го снижения тепловыделения по сравнению с исходным полимером. Однако в случае нанокомпозитов уровень выделения тепла, измеряемого с помощью конического калориметра, снижается на 20–70% в зависимости от степени наполнения наночастицами, типа полимера и толщины образца [30].

Конический калориметр, определяющий уровень потребления кислорода при горении [38], довольно часто применяют для определения горючести материалов, которая оценивается по количеству выделяемого тепла, уменьшению массы материала и количеству образующегося дыма. Этот метод оказался наиболее удобным для изучения горючести полимерных нанокомпозитов, и обсуждаемые в данной главе результаты отчасти получены с его помощью. Насколько хорошо результаты, полученные этим методом, коррелируют с результатами других тестов, особенно стандартизованных, читатель сможет оценить, если ознакомится с некоторыми работами из списка приведенной в конце главы литературы [39–44], однако дискуссия выходит за рамки темы данной главы. Но если мы хотим обсудить горючесть полимерных нанокомпозитов, важно понимать что измеряют в эксперименте, и какую роль измеряемая характеристика играет в механизме снижения горючести.

При изучении горючести полимерных нанокомпозитов с применением конического калориметра обычно регистрируют скорость выделения тепла. Конический калориметр изначально был сконструирован как инструмент для оценки пожарной безопасности, который позволяет определить выделение тепла при горении материала, в частности максимальную (пиковую) скорость тепловыделения (СТВ). Показатель пиковой СТВ можно определить просто — как максимальную скорость выделения тепла в процессе сгорания материала. Однако если говорить о пожарной безопасности, пиковая СТВ соответствует тому моменту в процессе горения материала, когда этот материал может воспламенить

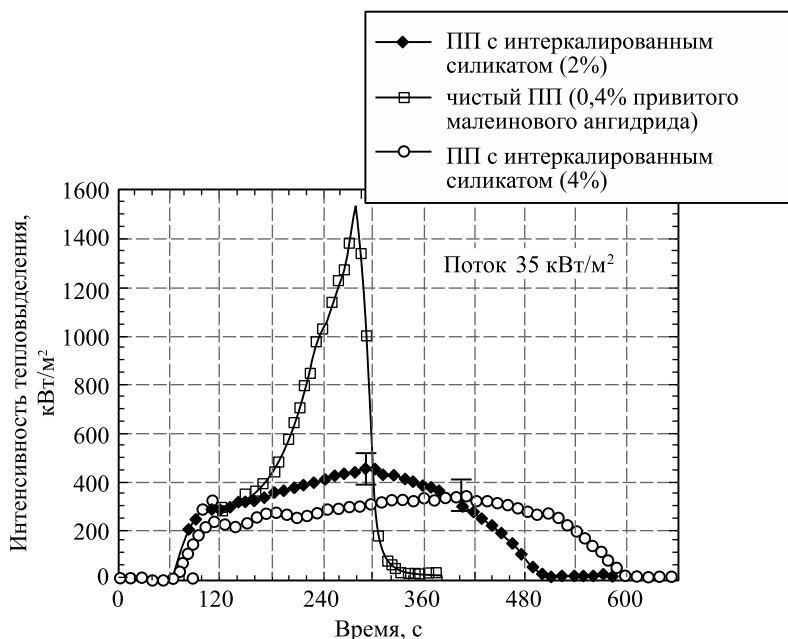


Рис. 5.2. Интенсивность выделения тепла при сжигании полипропилена и слоистых нанокомпозитов

другие объекты [45, 46]. По этой причине большинство исследователей, занимающихся вопросами горючести материалов, измеряют именно этот показатель. Нельзя сказать, что многие другие показатели, которые можно определить с помощью конического калориметра, менее важны [47, 48], однако пиковой СТВ придается особое значение, и этот показатель всегда выделяется среди результатов подобных исследований. В исследованиях нанокомпозитов на основе слоистых силикатов, а также нанокомпозитов на основе двухслойных гидроксидов и графитовых наночастиц, практически всегда выявляется значительное снижение пиковой СТВ по сравнению с исходным полимером. Характерный пример представлен на рисунке 5.2, на котором ясно видно существенное уменьшение пика СТВ по сравнению с исходным полимером. Механизм снижения этого пикового значения, а также изменение общей формы кривой объясняются тем, что при пиролизе в структуре полимера происходит образование обогащенного наночастицами защитного барьера. Пока точно неизвестно, происходит ли это в результате слипания пластинок наночастиц [27, 28, 49–52] или в результате миграции наночастиц к зонам пиролиза в горящем пластике [53], однако большинство ученых склоняются к первой версии. Как только возникает этот барьер, скорость потери массы или пиролиза горящего полимера падает, что, в свою очередь, приводит к снижению скорости выделения тепла (меньше сгорает топлива — меньше выделяется тепла). Кроме того, барьер

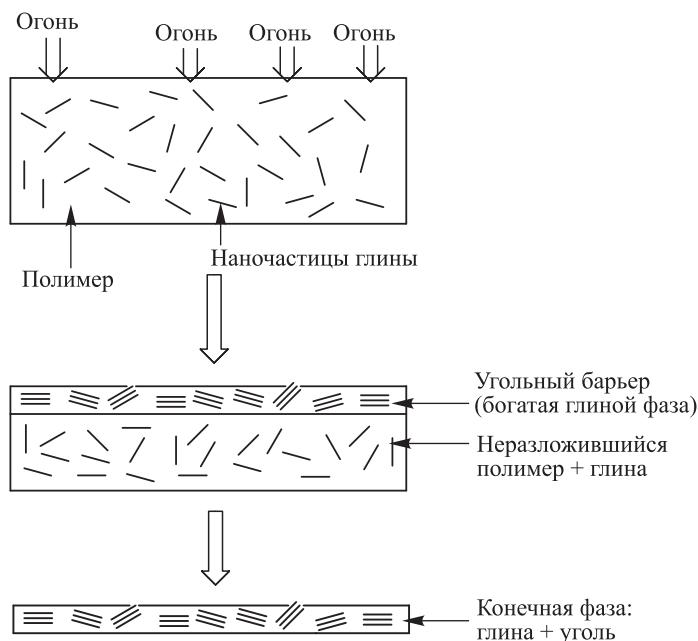


Рис. 5.3. Упрощенная схема формирования защитного барьера наночастицами глины

служит некоторой защитой для более глубоких слоев полимера, хотя в конечном итоге сгорают и они. Общая схема этого процесса представлена на рисунке 5.3. Обычно скорость выделения тепла при горении полимерных слоистых нанокомпозитов соответствует скорости уменьшения массы нанокомпозита, свидетельствуя о том, что торможение горения нанокомпозитов на основе слоистых материалов в первую очередь связано с образованием конденсированной фазы. В нанокомпозитах на основе двухслойных гидроксидов, которые также выделяют воду при тепловом разложении, механизм торможения несколько иной, но даже в этом случае он сводится к образованию конденсированной фазы с характерной особенностью этого процесса — снижением скорости потери массы [54, 55]. В случае всех этих нанокомпозитов после завершения сгорания образца в основном остается уголь, причем даже в случае тех полимеров, которые обычно угля не образуют.

При сгорании многих нанокомпозитов исходная форма объектов сохраняется, поскольку при сгорании материалы не текут, что также отличает их от традиционных термопластиков. В образовавшемся после сгорания угле обычно обнаруживают слипшиеся и сконцентрированные слоистые частицы, обеспечивавшие защитный барьер в процессе сгорания материала. Авторы опубликованного в 2006 г. исследования [50] изучали этот процесс довольно подробно, для чего они анализировали изменения толщин слоя глины в нанокомпозите полистирола и слои-

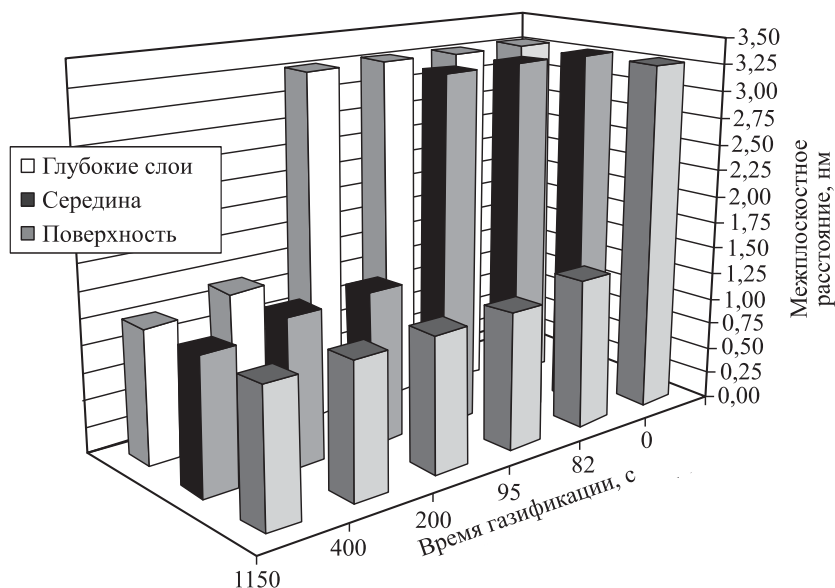


Рис. 5.4. Зависимость межплоскостного расстояния от уровня воздействия (времени газификации) для разных участков нанокомпозита полистирола и глины [50]

стых силикатов в зависимости от времени горения с помощью модифицированного конического калориметра. Образцы подвергали пиролизу в атмосфере азота и отбирали для анализа на разных стадиях распада (соответственно разным точкам на кривой потери массы). Результаты исследования однозначно показали, что поверхность обуглившегося вещества отличается высоким содержанием силикатов, а по данным рентгеновской дифракции под слоем угля глина сохраняла исходное межплоскостное расстояние до тех пор, пока со временем тепло не проникло в более глубокие слои образца (рис. 5.4). Важно подчеркнуть, что защитный слой только замедлял потерю массы и проникновение тепла, но не останавливал их окончательно. Подробнее эту тему мы обсудим в следующем разделе, посвященном использованию нанокомпозитов в комбинации с другими ингибиторами горения.

5.2.2. Химические свойства нанопластин и выделение тепла в интеркалированных и расслоенных системах

Памятуя о том, что механизм снижения горючести полимерных нанокомпозитов связан с замедлением потери массы, но не с ее полным прекращением, следует обратить внимание на два момента.

Первый касается химических свойств наночастиц, которые могут оказывать определенное влияние на выделение тепла. Как было сказано выше, нанокомпозиты на основе двухслойных гидроксидов при

горении также могут выделять воду [54, 55], но многие слоистые силикаты обладают определенными поверхностными свойствами, проявляющимися лишь при повышенной температуре. Такие силикаты могут служить катализаторами как «растрескивания» углеводородов, так и их циклоароматических превращений при повышенной температуре, и эти свойства поверхности в сочетании с длительным временем пребывания в конденсированной фазе могут приводить к изменению продуктов распада полимера. В случае полимерных нанокомпозитов на основе слоистых материалов часто отмечается изменение состава продуктов разложения [56–58], причем это указывает как на протекание свободно-радикальных процессов в конденсированной фазе, так и на наличие каталитических превращений. Это означает, что глины, как минимум, могут обеспечивать снижение скорости потери массы и образование защитного барьера, приводящего к ослаблению тепловыделения. Анализ с применением конического калориметра выявляет физические закономерности снижения горючести, однако химический анализ продуктов распада полимера позволяет предположить наличие также некоторых химических механизмов этого процесса [59].

Второй вопрос для обсуждения: действительно ли для максимального снижения горючести наноматериалы должны иметь интеркалированную или расслоенную структуру? Скорее всего, нужны обе структуры, и вклад обеих равноценен. Из обзора литературы следует, что интеркалированные и расслоенные системы одинаково хорошо способствуют снижению горючести материалов. Причем наиболее важную роль, по-видимому, играет не наноструктура (интеркалированная или расслоенная) слоистого материала, а дисперсность наночастиц в полимерной матрице на макро- и микроскопическом уровнях. Если наночастицы диспергированы плохо, то даже при наличии локальных расслоенных структур снижение горючести далеко не такое выраженное, как при равномерной дисперсности наночастиц в матрице [60]. Заметим, что в традиционных огнеупорных материалах распределение огнеупорного компонента в матрице играет важную роль, то же самое относится к полимерным нанокомпозитам. Таким образом, наличие интеркалированной или расслоенной структуры, возможно, несущественно влияет на огнестойкость, однако оно может заметно сказываться на механических свойствах и газовой проницаемости материала.

5.2.3. Горючесть нанокомпозитов на основе углеродных нанотрубок и нановолокон

В состав полимерных нанокомпозитов могут быть включены наночастицы вытянутой формы, такие как углеродные нанотрубки (одностенные или многостенные) или выращенные из газовой фазы нановолокна. Для этих материалов также характерно снижение СТВ, и, как и в случае полимерных нанокомпозитов на основе слоистых силикатов, механизм торможения горения связан с образованием конденсированной фазы [61–65]. И вновь снижение скорости умень-

шения массы нанокомпозита приводит к снижению показателя СТВ. Однако в случае полимерных нанокомпозитов на основе нанотрубок и нановолокон снижение скорости уменьшения массы происходит несколько иначе, чем в случае нанокомпозитов на основе слоистых силикатов. Нанотрубки и нановолокна не слипаются друг с другом, образуя защитный барьер, а по мере выгорания полимера формируют разветвленную сетку, замедляющую потерю массы и выделение тепла [61]. Такая разветвленная структура углеродных нанотрубок или нановолокон образуется в ходе синтеза полимерного нанокомпозита, но при горении она не исчезает, а по-видимому, конденсируется и уплотняется, что по мере пиролиза полимера приводит к постепенному уменьшению размера ячеек сети.

Пока еще горючесть нанокомпозитов на основе нанотрубок или нановолокон изучена не так подробно, как огнестойкость нанокомпозитов на основе слоистых материалов, но общие представления уже получены. Горючесть полимерных нанокомпозитов, содержащих нанотрубки или нановолокна, снижается примерно в той же степени, что и в случае полимерных нанокомпозитов на основе слоистых силикатов, однако тот же результат достигается при более низком содержании наночастиц. В некоторых случаях снижение горючести проявляется при содержании одностенных нанотрубок всего 0,5–1% по массе [61–65]. Это очень хороший результат, особенно если учесть высокую стоимость углеродных нанотрубок и даже более дешевых выращенных из газовой фазы углеродных нановолокон. Еще одним преимуществом полимерных нанокомпозитов на основе нанотрубок и нановолокон является то, что они в определенной степени проводят электрический ток. Та же самая разветвленная сеть, которая способствует ослаблению горючести материала, играет роль полупроводниковой цепи. Это означает, что нанокомпозиты на основе таких наночастиц не только отличаются пониженным уровнем пожарной опасности, но и могут использоваться в качестве электропроводящих или электроактивных материалов. Эти две характеристики в сочетании с улучшенными механическими свойствами делают данный класс нанокомпозитов весьма перспективным объектом исследований.

Последнее замечание, которое следует сделать по поводу нанокомпозитов на основе нанотрубок или нановолокон, заключается в том, что классификация по степени дисперсности в матрице, применяющаяся для нанокомпозитов на основе слоистых силикатов, не может быть использована в данном случае. Углеродные нанотрубки или нановолокна не могут интеркалировать или расслаиваться, но они также образуют агрегаты, которые необходимо разрушить до введения в матрицу или в ходе синтеза нанокомпозита, чтобы добиться снижения горючести. Углеродные нанотрубки могут образовывать частицы микрометрового размера, и если до проведения синтеза эти агрегаты не разрушить, заметного снижения горючести материала достичь не удастся, поскольку при смешивании с полимером будет образовываться не нанокомпозит, а микрокомпозит. Аналогично ситуации с нанокомпозитами на основе

слоистых силикатов, углеродные нанотрубки или нановолокна должны быть равномерно распределены по всей полимерной матрице. Если это условие не соблюдено, снижения горючести и повышения электрической проводимости готового полимерного нанокомпозита не произойдет. Наконец, углеродные нанотрубки и нановолокна очень сильно различаются между собой по химической структуре и диаметру. Углеродные нанотрубки обычно меньше и могут состоять как из одного слоя графита (одностенные углеродные нанотрубки, ОУНТ), так и из нескольких слоев (многостенные углеродные нанотрубки, МУНТ). В свою очередь углеродные нановолокна представляют собой тонкие графитовые ленты, свернутые в протяженные спирали, так что издали они напоминают трубочки, но на самом деле скорее похожи на стопку стаканов. Подробнее о химических особенностях этих наночастиц можно узнать из других глав данной книги, однако ясно, что различие в структуре приводит к различию в горючести соответствующих материалов, хотя оба типа наночастиц при горении сохраняют свою пространственную организацию в матрице.

5.2.4. Горючесть коллоидных нанокомпозитов

Горючесть этого класса нанокомпозитов изучена не так хорошо, как горючесть двух описанных выше классов. К этой группе материалов относятся наночастицы самого разного типа, которые могут иметь неправильную (но приближающуюся к сферической) форму и во всех измерениях имеют размер в нанометровом диапазоне. Практически, сюда можно отнести любой нанокомпозит, не содержащий слоистых материалов или нанотрубок/нановолокон. Большинство работ, посвященных изучению горючести этих материалов, было выполнено на наночастицах полиэдрального олигомерного силсесквиоксана (ПОСС) (рис. 5.5). К вершинам этой макромолекулы могут быть присоединены функциональные группы, что позволяет получить множество различных структур, взаимодействующих с другими полимерами. Большое разнообразие структур вызвало интерес исследователей к изучению горючести образующихся нанокомпозитов [66–70]. Оказалось, что снижение горючести (сокращение тепловыделения) в этой группе нанокомпозитов не такое заметное, как в случае нанокомпозитов на основе нанотрубок или слоистых силикатов, но все же оно более существенно, чем в композиционных материалах с традиционными наполнителями. Кроме того, для достижения той же степени снижения тепловыделения нанокомпозит должен содержать больше ПОСС, чем нанотрубок/нановолокон или слоистых силикатов. Это ограничивает использование данной группы веществ, особенно если учесть высокую стоимость ПОСС по сравнению с некоторыми другими наночастицами. Предполагаемый механизм снижения горючести заключается в образовании обогащенного ПОСС внешнего барьера, защищающего матрицу от проникновения тепла и замедляющего потерю массы,

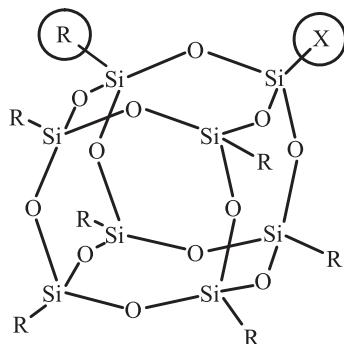


Рис. 5.5. Структура POSS. Радикал (R) может быть алкильной, арильной или другой химической группой; X может быть заменен на R или являться Cl, OH либо другой функциональной группой

напоминая механизм, характерный для слоистых силикатов [71–73]. Однако следует заметить, что для окончательного доказательства этого гипотетического механизма необходимы дополнительные исследования. Как и в случае с другими нанокомпозитами, для снижения горючести требуется равномерное распределение наночастиц в полимерной матрице.

Аналогичные исследования были проведены на частицах коллоидного кремнезема (размером от 10 до 20 нм), диспергированных в полиметилметакрилате (ПММА) [74]. Наночастицы равномерно распределяются в ПММА и, подобно тому, как это происходит с POSS, при сгорании полимера они начинают формировать обогащенный кремнеземом барьер, тормозящий потерю массы материала *in situ*. Однако снижение СТВ в данной системе оказалось не столь значительным, как при таком же наполнении пироженным кремнеземом [75, 76]. Пироженный кремнезем образует в полимерной матрице сетчатую структуру, тогда как коллоидный кремнезем начинает слипаться еще до образования защитного барьера. Это означает, что при использовании коллоидного кремнезема и, возможно, даже при применении POSS для получения такого же эффекта снижения тепловыделения, как в случае использования слоистых силикатов или нанотрубок, может понадобиться более высокое содержание наночастиц. То же самое относится и к другим неорганическим наночастицам, за исключением наночастиц гидроксидов магния и алюминия, включение которых приводит к значительному снижению горючести по сравнению с включением микрочастиц гидроксидов магния и алюминия. В виде наночастиц эти вещества имеют те же самые высвобождающие воду огнеупорные компоненты (соответственно $\text{Mg}(\text{OH})_2$ или $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), что позволяет уменьшать содержание наполнителя, но при этом сохранить или улучшить огнеупорные свойства материала по сравне-

нию с системой с традиционной формой наполнителя [77–81]. Хотя в этих системах присутствуют коллоидные неорганические наночастицы, трудно сказать, являются ли они истинными нанокомпозитами, поскольку содержание наночастиц гидроксида достаточно высокое (свыше 50%), и вполне вероятно, что в полимере распределены неорганические включения микрометрового размера, состоящие из наночастиц. В настоящее время ведутся исследования горючести наноматериалов на основе этих и других коллоидных наночастиц, которые в будущем, безусловно, будут продолжаться.

5.2.5. Поведение нанокомпозитов в пламени

Как было сказано в предыдущем разделе, полимерные нанокомпозиты часто характеризуются снижением показателя СТВ, связанным с сокращением скорости потери массы при горении полимера. Еще одним свойством этих систем является значительное повышение вязкости расплава, образующегося при горении. Это свойство обычно проявляется как уменьшение текучести материала. Полимерные образцы, которые в чистом виде плавятся, текут и образуют потеки, в виде нанокомпозитов не плавятся и не текут [29, 30, 82, 83], а практически сохраняют свою форму. Для пожарной безопасности это очень полезное свойство, поскольку оно означает, что плавящийся горящий полимер не будет стекать на другие предметы и способствовать их воспламенению. Таким образом, с учетом снижения показателя СВТ и текучести полимерные нанокомпозиты вполне можно назвать огнеупорными материалами, поскольку они сдерживают горение и препятствуют распространению пламени. Однако если полимерные нанокомпозиты все же загораются, они не гаснут самопроизвольно. Такие материалы медленно горят до тех пор, пока не сгорают полностью, превращаясь в обогащенный наночастицами уголь с некоторой дополнительной примесью углерода.

Учитывая все это, возникает вопрос: а можно ли называть эти материалы истинными огнеупорными материалами? Проведенные недавно исследования [82, 83] поставили своей целью получить ответ на него, особенно в связи с тем, что полимерные нанокомпозиты обычно не могут пройти стандартных испытаний на огнестойкость. Ответ получился в достаточной степени субъективным, но он позволит нам плавно перейти к теме следующего раздела. Полимерные нанокомпозиты действительно снижают выделение тепла и отличаются слабой текучестью, что является большим преимуществом по сравнению с исходными полимерами, из которых они состоят и которые при горении выделяют очень много тепла и растекаются. Наночастицы в составе нанокомпозитов снижают порог воспламеняемости полимера, так что для прохождения стандартного теста на «почетное звание» огнеупорного материала такие нанокомпозиты могут содержать меньше традиционного огнеупорного наполнителя.

5.3. Комбинирование полимерных нанокомпозитов с традиционными огнеупорными материалами

Повышенная огнестойкость и отсутствие текучести при горении обуславливают применение полимерных нанокомпозитов в качестве огнеупорных материалов. Смешение полимерных нанокомпозитов с традиционными огнеупорными добавками приводит к значительному снижению пожароопасности материала, после чего он может проходить различные стандартные тесты. Более того, иногда традиционные огнеупорные добавки удается заменить на полимерные нанокомпозиты (в соотношении 1 : 1 и более по массе), при этом огнеупорные свойства материала полностью сохраняются. В одних случаях добавки наночастиц и стандартных огнеупорных материалах приводят к синергетическому эффекту (достигаемый эффект выше того, что ожидается при суммировании эффекта от действия каждого компонента по отдельности), в других — их действие просто аддитивное, но оно практически универсальное для большинства типов огнеупорных добавок.

Полимерные нанокомпозиты успешно комбинировали с такими материалами, как галогенированные огнестойкие добавки [84–87], фосфорсодержащие добавки [88–95], вспучивающиеся огнестойкие покрытия [96–100] и минеральные наполнители [101–108]. В случае галогенированных и минеральных наполнителей были использованы коммерческие продукты. В результате комбинации галогенированных огнеупорных добавок с полиолефиновыми нанокомпозитами компания PolyOne разработала серию коммерческих продуктов UL-94 V, появившихся на рынке под торговым названием Маххам, однако, по мнению самой компании-производителя, действенность эффекта присутствия наноструктурированных компонентов в этих продуктах остается под вопросом [109]. Бельгийская компания Kabelwerk Eupen начала выпускать огнеупорный материал для изоляции проводов и кабелей на основе комбинации минеральных наполнителей (гидрат алюминия) и сополимера этилена с винилацетатом [110].

Хотя во многих случаях нанокомпозиты хорошо сочетаются с традиционными огнеупорными добавками, было опубликовано несколько сообщений о несовместимости этих компонентов. Например, при добавлении к эпоксидным резинам, содержащим огнеупорные фосфорсодержащие наполнители, нанокомпозитов на основе слоистых силикатов горючесть материала не снижалась, а наоборот — даже несколько увеличивалась [111–113]. Причина эффекта неясна, но, возможно, нанокомпозит затрудняет высвобождение в паровую фазу активных частиц фосфора или препятствует равномерному распределению фосфорсодержащего компонента в полимерной матрице. Возможно также, что слоистый материал не так хорошо распределялся в матрице, как предполагали авторы, и в таком случае антагонизм возникал между традиционной огнеупорной добавкой и микрокомпозитом. Конечно же, эти явления необходимо учитывать при работе с аналогичными

системами. Другой случай, когда добавление полимерного нанокомпозита ухудшило огнеупорные свойства системы, возник при сочетании полиамида-6 с циануратом меламина [114]. Предположительно снижение текучести материала за счет присутствия слоистого силиката не скомпенсировало повышения текучести, связанного с одновременным присутствием цианурата меламина. Некоторые тесты показывают, что при горении вертикально расположенных образцов добавка цианурата меламина помогает деполимеризовать полимер и полимер начинает вытекать еще до горения. Этот механизм характерен для полиамидных систем, где цианурат может атаковать амидные связи, приводя к снижению вязкости полимера в пламени. Таким образом, данный механизм противопожарного действия оказался неэффективным в полимерных нанокомпозитах, повышающих вязкость материалов. До настоящего времени это сообщение является единственным примером несовместимости подобного типа традиционных огнеупорных наполнителей и нанокомпозитов, однако весьма вероятно, что нанокомпозиты окажутся несовместимы с любыми огнеупорными добавками, повышающими текучесть полимеров. Отчасти эта идея подтверждается результатами тестирования полиамидной системы с огнеупорными добавками сульфаматов. Такие системы отличаются повышенной текучестью и проходят вертикальный тест на горючесть, но только без добавления нанокомпозита [115].

В заключение следует сказать, что большая часть работ, посвященных комбинированию полимерных нанокомпозитов и различных огнеупорных материалов, была выполнена лишь с нанокомпозитами на основе слоистых силикатов (глин). Возможно, при одновременном использовании углеродных нанотрубок или нановолокон и традиционных огнеупорных наполнителей будет обнаружен синергизм, и еще более вероятно, что этот же эффект проявится при применении коллоидных наночастиц, однако для подтверждения этой гипотезы требуются дополнительные исследования. В одном эксперименте, проведенном в 2008 г., различные полимеры, применяемые для изготовления изоляции кабелей, комбинировали с многостенными нанотрубками и минеральными огнеупорными наполнителями [116, 117]. На момент написания данной главы это была единственная работа, в которой рассказывалось о сочетании углеродных нанотрубок с другими огнеупорными добавками. Вполне вероятно, вскоре следует ожидать появления большого числа публикаций на эту тему, поскольку многие исследователи занялись изучением горючести нанокомпозитов на основе углеродных нанотрубок. Также вероятно, что полимерные нанокомпозиты будут по-прежнему выпускаться в промышленном масштабе в качестве огнеупорных материалов, поскольку обладают целым рядом полезных свойств и иногда позволяют снизить себестоимость продукции за счет уменьшения степени его наполнения.

5.4. Получение эффективных огнеупорных полимерных нанокомпозитов

Известно, что наночастицы придают полимерным нанокомпозитам огнеупорные свойства и совместимы с широким рядом традиционных огнеупорных добавок, поэтому далее будут рассмотрены некоторые способы получения эффективных огнеупорных нанокомпозитов. В нескольких главах этой книги рассмотрены различные тонкости синтеза полимерных нанокомпозитов, поэтому здесь мы ограничимся обсуждением лишь тех вопросов, которые касаются именно огнеупорных материалов.

Как уже было сказано ранее, наиболее изученной группой огнеупорных нанокомпозитов являются нанокомпозиты на основе слоистых силикатов. В настоящий момент большинство подобных композитов получают из обработанной органическими соединениями монтмориллонитовой глины, поставляемой от разных производителей. Такие модифицированные силикаты (органоглины) широко используются для изменения реологических свойств чернил, красок и буровых растворов и обычно получают в результате обработки алкиламмонийными соединениями. Стоимость такой органоглины невысокая, но ее применение в жаростойких полимерах ограничено, поскольку алкиламмонийные соединения разлагаются при температуре выше 200 °С. Было показано, что алкиламмонийные соединения на поверхности глины, как и свободные алкиламмонийные соединения, при температуре 180–200 °С (в зависимости от структуры соединения) подвергаются перегруппировке Гофмана [118–124] (рис. 5.6). Когда эти соединения распадаются, органоглина вновь приобретает свою гидрофильную (органобобную) природу. Это означает, что глины могут образовывать нанокомпозиты только с сильнополярными полимерами. Когда структура нанокомпозита утеряна, глина формирует лишь микрокомпозит, который мало отличается от исходного полимера по тепловыделению и растеканию при горении. Таким образом, при переработке термопластика из обработанной алкиламмонием органоглины при температуре в экструдере свыше 200 °С будет получаться не нано-, а микрокомпозит, если только время пребывания смеси в экструдере не будет сведено к минимуму. И даже при этом условии для большинства термопластиков при последующем инъекционном формовании будет наблюдаться дальнейшее разрушение связей, образовавшихся при обработке алкил-

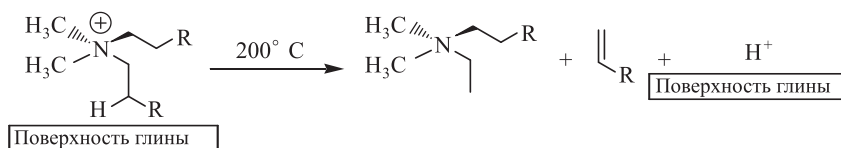


Рис. 5.6. Перегруппировка Гофмана, которой подвергаются алкиламмонийные соединения на поверхности глины (идеализированная схема реакции)

аммонием. Эта нестабильность, скорее всего, и является причиной того, что в промышленности огнеупорные полимерные нанокомпозиты производят только из полиолефинов, которые можно получать из расплавов при температуре значительно ниже 200 °С. Таким образом, если исследователь хочет добавить слоистые силикаты в полимер при температуре плавления или обработки около 200 °С, ему следует выбрать полимер, прошедший предварительную обработку для повышения термостойкости, например обработку имидазолом [125–132], фосфонием [133, 134] или подвергнутый другому «экзотическому» методу (с использованием, к примеру, солей сурьмы или тропилия) [135–139]. Ни один из этих методов не применяется для получения органоглины в промышленном масштабе. Нельзя сказать, что эти методы трудно было бы внедрить в производство. Соединения имидазола все шире используются в качестве ионных жидкостей и могут быть получены из различных промышленных источников, однако до сих пор их не применяли для обработки слоистых силикатов. Известно только, что соединения имидазола «работают», но лабораторные эксперименты еще не были масштабированы до промышленного уровня.

Все сказанное выше об органоглине не относится к углеродным нанотрубкам, нановолокнам или коллоидным наночастицам, хотя отсутствие предварительной обработки некоторых из этих наночастиц может препятствовать синтезу нанокомпозитов. В частности, если коллоидные наночастицы или нанотрубки/нановолокна не смешиваются с полимерной матрицей, они либо остаются в виде исходных агрегатов, либо после диспергирования образуют в матрице отдельную фазу и возвращаются в исходное агрегированное состояние. Другими словами, без предварительной обработки наночастиц может образоваться микрокомпозит. Именно по этой причине перед приготовлением композита необходимо внимательно изучить химические свойства как наночастиц, так и полимера, и определить, нужно ли проводить модификацию наночастиц, и если да, то каким образом.

Еще один вопрос, который необходимо рассмотреть при обсуждении получения огнеупорных полимерных нанокомпозитов, заключается в выборе метода оценки горючести материалов. На сегодняшний день чаще всего этот анализ проводят с применением конического калориметра, поскольку с его помощью можно количественно оценить горючесть нанокомпозита (выделение тепла), а на основании других измерений получить дополнительную информацию о поведении полимерного материала. Конический калориметр идеально подходит для оценки горючести полимерных нанокомпозитов и других взаимосвязанных с ней параметров, однако его показания плохо коррелируют с данными стандартных тестов [43, 44], и поэтому он находит ограниченное применение в промышленной лаборатории, занимающейся созданием коммерческого продукта. Измерения коническим калориметром проводятся в условиях хорошей вентиляции и интенсивного горения, которые могут сильно отличаться от условий, при которых проводятся стандартные тесты: плохая вентиляция, слабый источник огня или специфические

условия возникновения пожара. Таким образом, если речь идет о создании коммерческого продукта, исследователь с помощью конического калориметра должен получить результаты, объясняющие поведение нанокompозиционного материала, а затем уже подготовить материал к стандартному тесту. В этой главе мы не будем рассматривать многочисленные тесты, использующиеся для анализа пожарной опасности материалов, но лишь предложим вниманию читателей несколько дополнительных источников информации о принципах создания материалов, удовлетворяющих условиям пожарной безопасности*:

- *Fire Properties of Composite Materials*, Mouritz, A.P., Gibson, A.G. Eds., Series 143, in: *Solid Mechanics and Its Applications*, Springer, Netherlands, 2006.
- *Fundamentals of Fire Phenomena*, Quintiere, J.G., John Wiley & Sons, England, 2006.
- *Fire Retardancy of Polymeric Materials*, Grand, A.F., Wilkie, C.A., Eds., Marcel-Dekker, New York, 2000.

5.5. Выводы, потенциальные возможности и направления исследований огнеупорных полимерных нанокompозитов

В заключение следует подчеркнуть, что полимерные нанокompозиты продолжают рассматриваться в качестве очень перспективных материалов для различного практического применения, поскольку они обладают богатым многообразием свойств. Что же касается пожарной безопасности этой группы материалов, почти все нанокompозиты выгодно отличаются от исходных полимеров более низким значением тепловыделения и низкой растекаемостью при горении. Таким образом, эти материалы изначально обладают огнеупорными свойствами, но для прохождения стандартных тестов на пожарную безопасность их следует комбинировать с другими ингибиторами горения. Полимерные нанокompозиты совместимы практически со всеми классами огнеупорных материалов, что позволяет частично заменять традиционный огнеупорный материал добавкой нанокompозита при сохранении или даже улучшении уровня пожарной безопасности. Огнеупорное действие (снижение тепловыделения) большинства видов нанокompозитов, рассмотренных в данной главе, связано с замедлением потери массы и выделения тепла за счет образования защитных барьеров. Эти барьеры различаются по структуре и механизму формирования в зависимости от химических свойств и структуры образующих их наночастиц. Понимание данных механизмов позволяет добиться либо усиления защитных барьеров, либо снижения их проницаемости для полного сокращения

* Российскому читателю можно также порекомендовать научно-технический журнал «Пожаровзрывоопасность», выпускаемый ООО «Издательство «Пожнаука». — Прим. ред.

потери массы и выделения тепла, тем самым достигая новых успехов в создании более эффективных огнеупорных материалов.

Создание новых огнеупорных материалов в большей степени стимулируется новыми законами, стандартами и правилами, нежели запросами рынка. Соответствие нормам пожарной безопасности — это лишь одно условие из длинного списка требований, которым должен удовлетворять материал, чтобы его можно было производить в промышленных масштабах. Например, полимерные материалы, используемые для изготовления корпусов телевизоров или компьютеров, должны выдерживать условия, которые могут возникнуть при пожаре в результате повреждения электропроводки и короткого замыкания. Такие полимеры должны быть устойчивы к воздействию небольшого источника огня, самостоятельно погасать и не способствовать дальнейшему распространению пламени.

Сегодня подобным требованиям удовлетворяют многие материалы, однако достижение этого уровня безопасности противоречит другим правилам, разработанным для реутилизации электронных устройств. В некоторых странах любой пластик, содержащий огнеупорный материал, но трудно поддающийся реутилизации, отправляют на мусорные свалки или сжигают. При этом если в результате захоронения на свалках или сжигания огнеупорное вещество из такого пластика может попасть в окружающую среду или выделять токсичные продукты, то полимерный материал должен проходить не только тесты на пожарную безопасность, но и удовлетворять новым требованиям, не совместимым с химическими методами синтеза огнеупорных материалов. В настоящее время в Европе действует множество недавно принятых законов: закон о сокращении содержания опасных веществ (*reduction of hazardous substances, RoHS*), закон об утилизации электронных устройств и электроаппаратуры (*waste electronic and electrical equipment, WEEE*) и др., где прописаны требования более эффективной реутилизации огнеупорных полимерных материалов. В некоторых случаях современные огнеупорные материалы и добавки не соответствуют этим требованиям [140–144].

Мы не будем подробно останавливаться на обсуждении этих проблем, а отметим только, что, возможно, полимерные нанокомпозиты все же смогут заменить некоторые из традиционных наполнителей и добавок. К сожалению, до настоящего времени не было проведено серьезных исследований по поводу возможности реутилизации полимерных нанокомпозитов, так что эта область станет новым направлением будущих исследований. Теперь недостаточно только разработать и выпустить новый огнеупорный нанокомпозит, который способен пройти тест на пожарную безопасность. Нужно обращать внимание и на то, можно ли повторно использовать данный материал, или как его уничтожить безопасным образом. Можно ли переплавить полимерный нанокомпозит или его следует отправлять в мусоросжигательную печь? Не образуются ли при его сжигании токсичные продукты, которые потом придется удалять? Эти и подобные вопросы открывают новое и неизве-

данное поле исследований, связанных с влиянием нанотехнологии на окружающую среду и проблемами техники безопасности.

Существует определенное беспокойство по поводу опасности наночастиц для здоровья человека и состояния окружающей среды [145–147]. В определенном смысле, наночастицы являются естественным элементом внешнего мира, в частности, если мы говорим о таких материалах, как монтмориллонитовая глина, используемая для создания полимерных нанокомпозитов. Отличие заключается в том, что в природе этот слоистый силикат представлен частицами микрометрового и более крупного размера; для перевода же частичек силиката в форму наночастиц требуется определенная химическая модификация. Таким образом, опасность могут представлять индивидуальные наночастицы, а не материал в его исходной форме. Поскольку при диспергировании в полимерной матрице определенная доля наночастиц оказывается в виде индивидуальных включений, возникает вопрос о безопасности подобного материала. Выделяются ли наночастицы в окружающую среду при разрушении, измельчении или обработки нанокомпозита? А если нанокомпозиционный материал сжигают, остаются ли все наночастицы в золе или улетучиваются вместе с дымом? Пока ответов на эти вопросы нет, и чтобы понять, выделяются ли наночастицы из нанокомпозита при разрушении или горении, следует проводить специальные исследования. Результаты некоторых исследований, посвященных горючести нанокомпозиционных материалов, говорят о том, что наночастицы остаются связанными с углем, но эти данные требуют подтверждения. Кроме того, в нанокомпозите многие наночастицы полностью заключены в полимерную матрицу, и именно в этом случае оптимальным образом раскрываются все положительные свойства нанокомпозита. Наночастицы в составе микрокомпозита или при плохом распределении не полностью окружены полимерной матрицей. В таком случае, при измельчении нанокомпозиционного материала индивидуальные наночастицы, скорее всего, не могут попадать в окружающую среду, но это также следует подтвердить с помощью дополнительных экспериментов. Наконец, необходимо проанализировать «судьбу» наночастиц после вторичного дробления и переработки нанокомпозитов. В предыдущем разделе говорилось о нестабильности органоглин, полученных обработкой алкиламмонием. Длительное нагревание при температуре выше 200 °C может разрушить контакт между органоглиной и полимером, что приведет к изменению свойств материала и разрушению структуры нанокомпозита. Следовательно, вторичное дробление и переплавка, возможно, не подходят для реутилизации этой группы материалов, однако для подтверждения или опровержения этой гипотезы также требуются дополнительные данные.

Последним неизвестным слагаемым в задаче создания полимерных нанокомпозитов является поведение нанокомпозиционных материалов при старении и долгосрочном использовании. Возможные способы утилизации отработанного материала, баланс между механическими свойствами, горючестью и стоимостью материала — это лишь часть

вопросов, которые должен задавать себе исследователь. Другая и не менее важная часть проблем касается сохранения свойств материала во времени под действием различных внешних условий. Для того, чтобы пластмассовые изделия могли долго служить, в полимеры добавляют антиоксиданты, УФ-стабилизаторы и термостабилизаторы. В некоторых статьях сообщалось об ускоренном разложении полимерных нанокомпозитов под действием УФ-излучения [148–155]. Возможно, это связано со способностью наночастиц катализировать некоторые процессы под действием УФ-излучения или с тем, что наночастицы адсорбируют на своей поверхности антиоксиданты и УФ-стабилизаторы, снижая полезные свойства полимерной матрицы. Для создания на основе полимерных нанокомпозитов добротных коммерческих продуктов, удовлетворяющих многочисленным требованиям и стандартам, необходимо проанализировать поведение этих материалов в долгосрочном плане.

Но даже при такой сложности поставленной задачи область исследований, связанная с созданием и изучением полимерных нанокомпозитов, будет продолжать развиваться. В частности, уже опубликованы результаты исследований о горючести полимерных нанокомпозитов, содержащих несколько типов наночастиц [156, 157], и весьма вероятно, что в ближайшие годы будет появляться все больше и больше статей, посвященных фундаментальным и прикладным исследованиям огнеупорных полимерных нанокомпозитов. Также вероятно, что в ближайшие десятилетия ассортимент огнеупорных материалов, полученных с помощью нанотехнологий, расширится, поскольку исследователи все шире будут использовать преимущества синергизма в действии наночастиц и традиционных огнеупорных добавок.

По мере того как полимеры все больше вытесняют такие сравнительно тяжелые материалы, как керамика и металлы (что позволяет снизить расход энергии в различных устройствах и механизмах, а также их массу), повышаются и требования к огнеупорным свойствам полимерных материалов. В связи с этим потребность в негорючих многофункциональных материалах будет только расти, что подразумевает активное развитие технологии нанокомпозиционных материалов. Потребность в новых материалах возрастает не только в таких высокотехнологичных областях, как электроника и космическая индустрия. Во многих областях промышленности для решения новых задач нужны материалы, соответствующие множеству различных критериев. Полимерные нанокомпозиты представляют собой класс материалов, которые как раз и обладают такой широкой многофункциональностью, поэтому использование полимерных нанокомпозитов неизбежно будет расширяться как в сфере высоких технологий, так и в производстве предметов повседневного спроса. Понятно, что нельзя оставить без внимания проблемы, связанные с реутилизацией нанокомпозиционных материалов и влиянием наночастиц на здоровье человека и состояние окружающей среды, однако преимущества этого класса материалов заставят исследователей найти подходящие решения. В заключение, возвращаясь к теме пожарной безопасности, следует сказать, что очевид-

ное снижение горючести полимеров при включении в них наноструктурированных наполнителей (уменьшенное тепловыделение и текучесть) и все более широкое использование наноккомпозитов в различных областях производства неизбежно приведут к общему повышению уровня пожарной безопасности для всего общества. Это не означает, что применение полимерных наноккомпозитов позволит решить все проблемы человечества, связанные с пожарной безопасностью, но общий уровень опасности окружающих нас и созданных нами материалов, безусловно, будет заметно снижаться.

Благодарности

Автор благодарит компанию OMNOVA за финансирование, обеспечившее ему возможность заниматься написанием данной главы. Кроме того, финансовая помощь была предоставлена программой Materials Development for Multifunctional Composite Survivability Systems (грант W911NF-07-2-005) исследовательской лаборатории ВС США AMSRD-ARL-WM-MD.

Литература

1. Usuki, A., Kojima, Y., Kawasumi, M., Okada, A., Fukushima, Y., Kurauchi, T., Kamigaito, O. J. Synthesis of nylon 6-clay hybrid. *Mater. Res.* 1993, 8, 1179–1184.
2. Okada, A., Usuki, A. The chemistry of polymer-clay hybrids. *Mat. Sci. Eng. C.* 1995, 3, 109–115.
3. Vaia, R.A., Jandt, K.D., Kramer, E.J., Giannelis, E.P. Microstructural evolution of melt intercalated polymer-organically modified layered silicates nanocomposites. *Chem. Mater.* 1996, 8, 2628–2635.
4. Giannelis, E.P. Polymer layered silicate nanocomposites. *Adv. Mater.* 1996, 8, 29.
5. Lan, T., Kaviratna, P.D., Pinnavaia, T.J. Mechanism of clay tactoid exfoliation in epoxy-clay nanocomposites. *Chem. Mater.* 1995, 7, 2144–2150.
6. Lan, T., Pinnavaia, T.J. Clay-reinforced epoxy nanocomposites. *Chem. Mater.* 1994, 6, 2216–2219.
7. Ray, S.S., Okamoto, M. Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing. *Prog. Polym. Sci.* 2003, 28, 1539–1641.
8. Moniruzzaman, M., Winey, K.I. Polymer nanocomposites containing carbon nanotubes. *Macromolecules* 2006, 39, 5194–5205.
9. Utracki, L.A., Sepehr, M., Boccaleri, E. Synthetic, layered nanoparticles for polymeric nanocomposites (PNCs). *Polym. Adv. Technol.* 2007, 18, 1–37.

10. Okada, A., Usuki, A. Macromol. Twenty years of polymer-clay nanocomposites. *Mater. Eng.* 2007, 291, 1449–1476.
11. Vaia, R.A., Maguire, J.F. Polymer nanocomposites with prescribed morphology: Going beyond nanoparticle-filled polymers. *Chem. Mater.* 2007, 19, 2736–2751.
12. Koo, J.H. McGraw-Hill, Polymer Nanocomposites New York, 2006.
13. Blumstein, A. J. Polymerization of adsorbed monolayers. I. Preparation of the clay-polymer complex. *Polym. Sci. Part A.* 1963, 3, 2653–2664.
14. Blumstein, A. J. Polymerization of adsorbed monolayers. II. Thermal degradation of the inserted polymer. *Polym. Sci. Part A.* 1963, 3, 2665–2672.
15. Blumstein, A., Billmeyer, Jr., F.W. Polymerization of adsorbed monolayers. III. Preliminary structure studies in dilute solution of the insertion polymers. *J. Polym. Sci. Part A-2.* 1966, 4, 465–474.
16. Blumstein, A., Blumstein, R. J. Association I: Two-dimensionally crosslinked poly(methyl methacrylate). *Polym. Sci. Polym. Lett.* 1967, 5, 691–696.
17. Blumstein, A. J. Branching in poly(methyl methacrylate) obtained by γ -ray irradiation. *Polym. Sci. Polym. Lett.* 1967, 5, 687–690.
18. Blumstein, A. J. Tacticity of poly(methyl methacrylate) prepared by radical polymerization within a monolayer of methyl methacrylate adsorbed on montmorillonite. *J. Polym. Sci. Polym. Lett.* 1968, 6, 69–74.
19. Blumstein, A., Blumstein, R., Vanderspurt, T.H. Polymerization of adsorbed monolayers. IV. The two-dimensional structure of insertion polymers. *J. Colloid Surf. Sci.* 1969, 31, 236–247.
20. Blumstein, A., Malhotra, S.I., Watterson, A.C. Polymerization of adsorbed monolayers. V. Tacticity of the insertion poly(methyl methacrylate). *J. Polym. Sci. Part A-2* 1970, 8, 1599–1615.
21. Blumstein, A. Polymerization of monolayers. VI. Influence of the nature of the exchangeable ion on the tacticity of insertion (poly(methyl methacrylate)). *J. Polym. Sci. Part A-2* 1971, 9, 1681–1691.
22. Malhotra, S.L., Parikh, K.K., Blumstein, A. Polymerization of monolayers. VII. Influence of the exchangeable cation on the polymerization rate of methylmethacrylate monolayers adsorbed on montmorillonite. *J. Colloid Surf. Sci.* 1972, 41, 318–327.
23. Bradbury, J.A., Rowlands, R., Tipping, J.W. US Patent № 4447491, 1984.
24. Shain, A.L. US Patent #4582866, 1986.
25. Lee, J., Takekoshi, T., Giannelis, E. Mater. Res. Soc. Symp. Proc. 1997, 457, 512–518.
26. Gilman, J., Kashiwagi, T., Lomakin, S., Giannelis, E., Manias, E., Lichtenhan, J., Jones, P. in “Fire Retardancy of Polymers: The Use of Intumescence” The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. 1998.

27. Gilman, J.W. Flammability and thermal stability studies of polymer layered-silicate (clay) nanocomposites. *Applied Clay Science* 1999, 15, 31–49.
28. Gilman, J.W., Jackson, C.L., Morgan, A.B., Harris, R., Manias, E., Giannelis, E.P., Wuthenow, M., Hilton, D., Phillips, S.H. Flammability properties of polymer-layered silicate nanocomposites. Polypropylene and polystyrene nanocomposites. *Chem. Mater.* 2000, 12, 1866–1873.
29. Morgan, A.B. Flame retarded polymer layered silicate nanocomposites: A review of commercial and open literature systems. *Polym. Adv. Technol.* 2006, 17, 206–217.
30. Morgan, A.B., Wilkie, C.A. Eds. Flame Retardant Polymer Nanocomposites. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ. 2007.
31. Uhl, F.M., Wilkie, C.A. Polystyrene/graphite nanocomposites: Effect on thermal stability. *Polym. Degrad. Stab.* 2002, 76, 111–122.
32. Zhu, J., Uhl, F.M., Morgan, A.B., Wilkie, C.A. Studies on the mechanism by which the formation of nanocomposites enhances thermal stability. *Chem. Mater.* 2001, 13, 4649–4654.
33. Zhang, R., Hu, Y., Xu, J., Fan, W., Chen, Z. Flammability and thermal stability studies of styrene-butyl acrylate copolymer/graphite oxide nanocomposite. *Polym. Degrad. Stab.* 2004, 85, 583–588.
34. Wang, J., Han, Z. Mechanistic aspects of nanoeffect on poly(acrylic ester)-GO composites: TGA-FTIR study on thermal degradation and flammability of polymer layered graphite oxide composites. Fire and Polymers IV: Materials and Concepts for Hazard Prevention ACS Symposium Series #922, Ed. Wilkie, C.A., Nelson, G.L. American Chemical Society, Washington, DC, 2005, pp. 172–184.
35. Morgan, A.B., Gilman, J.W. Characterization of polymer-layered silicate (clay) nanocomposites by transmission electron microscopy and X-ray diffraction: A comparative study. *J. App. Polym. Sci.* 2003, 87, 1329–1338.
36. Vermogen, A., Masenelli-Varlot, K., Seguela, R., Duchet-Rumeau, J., Boucard, S., Prele, P. Evaluation of the structure and dispersion in polymer-layered silicate nanocomposites. *Macromolecules* 2005, 38, 9661–9669.
37. Vaia, R.A., Liu, W. J. X-ray powder diffraction of polymer/layered silicate nanocomposites: Model and practice. *Polym. Sci. B: Polym. Phys.* 2002, 40, 1590–1600.
38. ASTM E1354 “Standard Heat Method for Heat and Visible Smoke Release Rates for Materials and Products Using an Oxygen Consumption Calorimeter” and “ISO/FDIS 5660-1 Reaction-to-fire tests — Heat release, smoke production and mass loss rate — Part 1: Heat release (cone calorimeter method).”
39. ScharTEL, B., Braun, U. Comprehensive fire behaviour assessment of polymeric materials based on cone calorimeter investigations. *e-Polymers* 2003, 13. www.e-polymers.org/papers/schartel_010403.pdf.

40. Costa, L., Camino, G., Bertelli, G., Borsini, G. Mechanistic study of the combustion behavior of polymeric materials in bench-scale tests. I. Comparison between cone calorimeter and traditional tests. *Fire and Materials* 1995, 19, 133–142.
41. Hopkins, D., Quintiere, J.G. Material fire properties and predictions for thermoplastics. *Fire Safety Journal* 1996, 26, 241–268.
42. Petrella, R.V. The assessment of full-scale fire hazards from cone calorimeter data. *J. Fire Sci.* 1994, 12, 14–43.
43. Filipczak, R., Crowley, S., Lyon, R.E. Heat release rate measurements of thin samples in the OSU apparatus and the cone calorimeter. *Fire Safety Journal* 2005, 40, 628–645.
44. Morgan, A.B., Bundy, M. Cone calorimeter analysis of UL-94 V-rated plastics. *Fire Mater.* 2007, 31, 257–283.
45. Babrauskas, V. Specimen heat fluxes for bench-scale heat release rate testing. *Fire and Materials* 1995, 19, 243–252.
46. Babrauskas, V., Peacock, R.D. Heat release rate: The single most important variable in fire hazard. *Fire Safety Journal* 1992, 18, 255–272.
47. Schartel, B., Bartholmai, M., Knoll, U. Some comments on the use of cone calorimeter data. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 88, 540–547.
48. Schartel, B., Hull, T.R. Development of fire-retarded materials — Interpretation of cone calorimeter data. *Fire and Materials* 2007, 31, 327–354.
49. Wang, J., Du, J., Zhu, J., Wilkie, C.A. An XPS study of the thermal degradation and flame retardant mechanism of polystyrene-clay nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2002, 77, 249–252.
50. Gilman, J.W., Harris, R.H., Shields, J.R., Kashiwagi, T., Morgan, A.B. A study of the flammability reduction mechanism of polystyrene-layered silicate nanocomposite: Layered silicate reinforced carbonaceous char. *Polym. Adv. Technol.* 2006, 17, 263–271.
51. Morgan, A.B., Harris, R.H., Kashiwagi, T., Chyall, L.J., Gilman, J.W. Flammability of polystyrene layered silicate (clay) nanocomposites: Carbonaceous char formation. *Fire and Materials* 2002, 26, 247–253.
52. Bourbigot, S., Gilman, J.W., Wilkie, C.A. Kinetic analysis of the thermal degradation of polystyrene-montmorillonite nanocomposite. *Polym. Degrad. Stab.* 2004, 84, 483–492.
53. Tang, Y., Lewin, M. Maleated polypropylene OMMT nanocomposite: Annealing, structural changes, exfoliated and migration. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 92, 53–60.
54. Camino, G., Maffezzoli, A., Braglia, M., De Lazzaro, M., Zammarano, M. Effect of hydroxides and hydroxycarbonate structure on fire retardant effectiveness and mechanical properties in ethylene-vinyl acetate copolymer. *Polym. Degrad. Stab.* 2001, 74, 457–464.

55. Zammarano, M., Franceschi, M., Bellayer, S., Gilman, J.W., Meriani, S. Preparation and flame resistance properties of revolutionary self-extinguishing epoxy nanocomposites based on layered double hydroxides. *Polymer* 2005, 46, 9314–9328.
56. Costache, M.C., Wang, D., Heidecker, M.J., Manias, E., Wilkie, C.A. The thermal degradation of poly(methyl methacrylate) nanocomposites with montmorillonite, layered double hydroxides and carbon nanotubes. *Polym. Adv. Technol.* 2006, 17, 272–280.
57. Costache, M.C., Jiang, D.D., Wilkie, C.A. Thermal degradation of ethylene-vinyl acetate copolymer nanocomposites. *Polymer* 2005, 46, 6947–6958.
58. Jang, B.N., Wilkie, C.A. The effect of clay on the thermal degradation of polyamide 6 in polyamide 6/clay nanocomposites. *Polymer* 2005, 46, 3264–3274.
59. Costache, M.C., Heidecker, M.J., Manias, E., Camino, G., Frache, A., Beyer, G., Gupta, R.K., Wilkie, C.A. The influence of carbon nanotubes, organically modified montmorillonites and layered double hydroxides on the thermal degradation and fire retardancy of polyethylene, ethylene-vinyl acetate copolymer and polystyrene. *Polymer* 2007, 48, 6532–6545.
60. Zhu, J., Morgan, A.B., Lamelas, F.J., Wilkie, C.A. Fire properties of polystyrene-clay nanocomposites. *Chem. Mater.* 2001, 13, 3774–3780.
61. Cipiriano, B.H., Kashiwagi, T., Raghavan, S.R., Yang, Y., Grulke, E.A., Yamamoto, K., Shields, J.R., Douglas, J.F. Effects of aspect ratio of MWNT on the flammability properties of polymer nanocomposites. *Polymer* 2007, 48, 6086–6096.
62. Kashiwagi, T., Du, F., Winey, K.I., Groth, K.M., Shields, J.R., Bellayer, S.P., Kim, H., Douglas, J.F. Flammability properties of polymer nanocomposites with single-walled carbon nanotubes: Effects of nanotube dispersion and concentration. *Polymer* 2005, 46, 471–481.
63. Kashiwagi, T., Grulke, E., Hilding, J., Harris, R., Awad, W., Douglas, J. Thermal degradation and flammability properties of poly(propylene)/carbon nanotube composites. *Macromol. Rapid Commun.* 2002, 23, 761–765.
64. Kashiwagi, T., Grulke, E., Hilding, J., Groth, K., Harris, R., Butler, K., Shields, J., Kharchenko, S., Douglas, J. Thermal and flammability properties of polypropylene/carbon nanotube nanocomposites. *Polymer* 2004, 45, 4227–4239.
65. Kashiwagi, T., Du, F., Douglas, J.F., Winey, K.I., Harris, R.H., Shields, J.R. Nanoparticle networks reduce the flammability of polymer nanocomposites. *Nature Materials* 2005, 4, 928–933.
66. Devaux, E., Rochery, M., Bourbigot, S. Polyurethane/clay and polyurethane/POSS nanocomposites as flame retarded coating for polyester and cotton fabrics. *Fire and Materials* 2002, 26, 149–154.
67. Jash, P., Wilkie, C.A. Effects of surfactants on the thermal and fire properties of poly(methyl methacrylate)/clay nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 88, 401–406.

68. Fina, A., Abbenhuis, H.C.L., Tabuani, D., Camino, G. Metal functionalized POSS as fire retardants in polypropylene. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 91, 2275–2281.
69. Chigwada, G., Jash, P., Jiang, D.D., Wilkie, C.A. Fire retardancy of vinyl ester nanocomposites: Synergy with phosphorus-based fire retardants. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 89, 85–100.
70. Liu, Lei, Hu, Yuan, Song, Lei, et al. Combustion and thermal properties of OctaTMA-POSS/PS composites. *J. Mater. Sci.* 2007, 42, 4325–4333.
71. Zheng, L., Kasi, R.M., Farris, R.J., Coughlin, E.B. Synthesis and thermal properties of hybrid copolymers of syndiotactic polystyrene and polyhedral oligomeric silsesquioxane *J. Polym. Sci. Part A, Polym. Chem.* 2002, 40, 885–891.
72. Huang, J.C., He, C.B., Xiao, Y., Mya, K.Y., Dai, J., Siow, Y.P. Polyimide/POSS nanocomposites: Interfacial interaction, thermal properties and mechanical properties. *Polymer* 2003, 44, 4491–4499.
73. Kashiwagi T., Gilman, J.W. Silicon-based flame retardants. in *Fire Retardancy of Polymeric Materials*. Grand, A.F., Wilkie, C.A., eds. New York, Marcel Dekker, 2000, 353–389.
74. Kashiwagi, T., Morgan, A.B., Antonucci, J.M., VanLandingham, M.R., Harris, R.H., Awad, W.H., Shields, J.R. Thermal and flammability properties of a silica-poly(methylmethacrylate) nanocomposite. *J. App. Polym. Sci.* 2003, 89, 2072–2078.
75. Kashiwagi, T., Gilman, J.W., Butler, K.M., Harris, R.H., Shields, J.R. Asano, A. Flame retardant mechanism of silica gel/silica. *Fire and Materials* 2000, 24, 277–289.
76. Kashiwagi, T., Shields, J.R., Harris, R.H., Davis, R.D. Flame-retardant mechanism of silica: Effects of resin molecular weight. *J. App. Polym. Sci.* 2003, 87, 1541–1553.
77. Mishra, S., Sonawane, S.H., Singh, R.P., Bendale, A., Patil, K. Effect of nano-Mg(OH)₂ on the mechanical and flame-retarding properties of polypropylene composites. *J. App. Polym. Sci.* 2004, 94, 116–122.
78. Zhang, Q., Tian, M., Wu, Y., Lin, G., Zhang, L. Effect of particle size on the properties of Mg(OH)₂-filled rubber composites. *J. App. Polym. Sci.* 2004, 94, 2341–2346.
79. Jiao, C.M., Wang, Z.Z., Ye, Z., Hu, Y., Fan, W.C. Flame retardation of ethylene-vinyl acetate copolymer using nano magnesium hydroxide and nano hydrotalcite. *J. Fire Sci.* 2006, 24, 47–64.
80. Zhang, X., Guo, F., Chen, J., Wang, G., Liu, H. Investigation of interfacial modification for flame retardant ethylene vinyl acetate copolymer/alumina trihydrate nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 87, 411–418.
81. Daimatsu, Kazuki, Sugimoto, Hideki, Kato, Yasunori, et al. Preparation and physical properties of flame retardant acrylic resin containing nano-sized aluminum hydroxide. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 1433–1438.

82. Bartholmai, M., Schartel, B. Layered silicate polymer nanocomposites: New approach or illusion for fire retardancy? Investigations of the potentials and the tasks using a model system. *Polymers for Advanced Technologies* 2004, 15, 355–364.
83. Schartel, B., Bartholmai, M., Knoll, U. Some comments on the main fire retardancy mechanisms in polymer nanocomposites. *Polym. Adv. Technol.* 2006, 17, 772–777.
84. Zanetti, M., Camino, G., Canavese, D., Morgan, A.B., Lamelas, F.J., Wilkie, C.A. Fire retardant halogen-antimony-clay synergism in polypropylene layered silicate nanocomposites. *Chem. Mater.* 2002, 14, 189–193.
85. Hu, Y., Wang, S., Ling, Z., Zhuang, Y., Chen, Z., Fan, W. Preparation and combustion properties of flame retardant nylon-6/montmorillonite nanocomposite. *Macromol. Mater. Eng.* 2003, 288, 272–276.
86. Si, M., Zaitsev, V., Goldman, M., Frenkel, A., Peiffer, D.G., Weil, E., Sokolov, J.C., Rafailovich, M.H. Self-extinguishing polymer/organoclay nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 86–93.
87. Wang, D., Echols, K., Wilkie, C.A. Cone calorimetric and thermogravimetric analysis evaluation of halogen-containing polymer nanocomposites. *Fire and Materials* 2005, 29, 283–294.
88. Chigwada, G., Wilkie, C.A. Synergy between conventional phosphorus fire retardants and organically modified clays can lead to fire retardancy of styrenics. *Polym. Degrad. Stab.* 2003, 80, 551–557.
89. Torre, L., Lelli, G., Kenny, J.M. Cure kinetics of epoxy/anhydride nanocomposite systems with added reactive flame retardants. *J. App. Polym. Sci.* 2004, 94, 1676–1689.
90. Toldy, A., Toth, N., Anna, P., Marosi, G. Synthesis of phosphorus-based flame retardant systems and their use in an epoxy resin. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 91, 585–592.
91. Schartel, B., Knoll, U., Hartwig, A., Putz, D. Phosphonium-modified layered silicate epoxy resins nanocomposites and their combinations with ATH and organo-phosphorus fire retardants. *Polym. Adv. Technol.* 2006, 17, 281–293.
92. Toldy, A., Anna, P., Csontos, I., Szabo, A., Marois, Gy. Intrinsically flame retardant epoxy resin — Fire performance and background — Part I. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 2223–2230.
93. Song, L., Hu, Y., Lin, Z., Xuan, S., Wang, S., Chen, Z., Fan, W. Preparation and properties of halogen-free flame-retarded polyamide 6/organoclay nanocomposite. *Polym. Degrad. Stab.* 2004, 86, 535–540.
94. Wang, D.-Y., Wang, Y.-Z., Wang, J.-S., Chen, D.-Q., Zhou, Q., Yang, B., Li, W.-Y. Thermal oxidative degradation behaviours of flame-retardant copolyesters containing phosphorus linked pendent group/montmorillonite nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 87, 171–176.
95. Chigwada, G., Jash, P., Jiang, D.D., Wilkie, C.A. Fire retardancy of vinyl ester nanocomposites: Synergy with phosphorus-based fire retardants. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 89, 85–100.

96. Tang, Y., Hu, Y., Wang, S., Gui, Z., Chen, Z., Fan, W. Intumescent flame retardant-montmorillonite synergism in polypropylenelayered silicate nanocomposites. *Polym. Int.* 2003, 52, 1396–1400.
97. Marosi, Gy., Marton, A., Szep, A., Csontos, I., Keszei, S., Zimonyi, E., Toth, A., Almeras, X., Le Bras, M. Fire retardancy effect of migration in polypropylene nanocomposites induced by modified interlayer. *Polym. Degrad. Stab.* 2003, 82, 379–385.
98. He, S., Hu, Y., Song, L., Tang, Y. Fire safety assessment of halogen-free flame retardant polypropylene based on cone calorimeter. *J. Fire Sci.* 2007, 25, 109–118.
99. Dabrowski, F., Le Bras, M., Cartier, L., Bourbigot, S. The use of clay in an EVA-based intumescent formulation. Comparison with the intumescent formulation using polyamide-6 clay nanocomposite as carbonisation agent. *J. Fire Sciences* 2001, 19, 219–241.
100. Bourbigot, S., Le Bras, M., Dabrowski, F., Gilman, J.W., Kashiwagi, T. PA-6 clay nanocomposite hybrid as char forming agent in intumescent formulations. *Fire and Materials* 2000, 24, 201–208.
101. Morgan, A.B., Cogen, J.M., Opperman, R.S., Harris, J.D. The effectiveness of magnesium carbonate-based flame retardants for poly(ethylene-co-vinyl acetate) and poly(ethylene-co-ethyl acrylate). *Fire and Materials* 2007, 31, 387–410.
102. Beyer, G. Flame retardant properties of EVA-nanocomposites and improvements by combination of nanofillers with aluminum trihydrate. *Fire and Materials* 2001, 25, 193–197.
103. Laoutid, F., Ferry, L., Leroy, E., Lopez Cuesta, J.M. Intumescent mineral fire retardant systems in ethylene-vinyl acetate copolymer: Effect of silica particles on char cohesion. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 91, 2140–2145.
104. Haurie, L., Fernandez, A.I., Velasco, J.I., Chimenos, J.M., Lopez-Cuesta, J.-M., Espiell, F. Thermal stability and flame retardancy of LDPE/EVA blends filled with synthetic hydromagnesite/aluminium hydroxide/montmorillonite and magnesium hydroxide/aluminium hydroxide/montmorillonite mixtures. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 1082–1087.
105. Clerc, L., Ferry, L., Leroy, E., Lopez-Cuesta, J.-M. Influence of talc physical properties on the fire retarding behaviour of (ethylene-vinyl acetate copolymer/magnesium hydroxide/talc) composites. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 88, 504–511.
106. Laoutid, F., Gaudon, P., Taulemesse, J.-M., Lopez Cuesta, J.M., Velasco, J.I., Piechaczyk, A. Study of hydromagnesite and magnesium hydroxide based fire retardant systems for ethylene-vinyl acetate containing organo-modified montmorillonite. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 91, 3074–3082.
107. Szep, A., Szabo, A., Toth, N., Anna, P., Marosi, G. Role of montmorillonite in flame retardancy of ethylene-vinyl acetate copolymer. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 91, 593–599.

108. Hull, T.R., Price, D., Liu, Y., Wills, C.L., Brady, J. An investigation into the decomposition and burning behaviour of ethylenevinyl acetate copolymer nanocomposite materials. *Polym. Degrad. Stab.* 2003, 82, 365–371.
109. www.polyone.com/prod/trade/trade_info.asp?ID={97982AED-1F22-46DC-BA4B-15CF4DCEC90D}&link=M.
110. Beyer, G. J. Flame retardancy of nanocomposites — From research to technical products. *Fire Sci.* 2005, 23, 75–87.
111. Liu, W., Varley, R.J., Simon, G.P. Understanding the decomposition and fire performance processes in phosphorus and nanomodified high performance epoxy resins and composites. *Polymer* 2007, 48, 2345–2354.
112. Kandare, E., Chigwada, G., Wang, D., Wilkie, C.A., Hossenlopp, J.M. Probing synergism, antagonism, and additive effects in poly(vinyl ester) (PVE) composites with fire retardants. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 91, 1209–1218.
113. Hussain, M., Varley, R.J., Mathys, Z., Cheng, Y.B., Simon, G.P. Effect of organo-phosphorus and nano-clay materials on the thermal and fire performance of epoxy resins. *J. App. Polym. Sci.* 2004, 91, 1233–1253.
114. Hu, Y., Wang, S., Ling, Z., Zhuang, Y., Chen, Z., Fan, W. Preparation and combustion properties of flame retardant nylon-6/montmorillonite nanocomposite. *Macromol. Mater. Eng.* 2003, 288, 272–276.
115. Lewin, M., Zhang, J., Pearce, E., Gilman, J. Flammability of polyamide 6 using the sulfamate system and organo-layered silicate. *Polymers for Advanced Technology* 2007, 18, 737–745.
116. Beyer, G. Filler blend of carbon nanotubes and organoclays with improved char as a new flame retardant system for polymers and cable applications. *Fire Mater.* 2005, 29, 61–69.
117. Beyer, G. Flame retardancy of nanocomposites based on organoclays and carbon nanotubes with aluminum trihydrate. *Polym. Adv. Technol.* 2006, 17, 218–225.
118. Xie, W., Gao, Z., Pan, W.-P., Hunter, D., Singh, A., Vaia, R. Thermal degradation chemistry of alkyl quaternary ammonium montmorillonite. *Chem. Mater.* 2001, 13, 2979–2990.
119. Dharaiya, D., Jana, S.C. Thermal decomposition of alkyl ammonium ions and its effect on surface polarity of organically treated nanoclay. *Polymer* 2005, 46, 10139–10147.
120. Shah, R.K., Paul, D.R. Organoclay degradation in melt processed polyethylene nanocomposites. *Polymer* 2006, 47, 4084.
121. Bellucci, F., Camino, G., Frache, A., Sarra, A. Catalytic charring-volatilization competition in organoclay nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 425–436.

122. Monticelli, O., Musina, Z., Frache, A., Bullucci, F., Camino, G., Russo, S. Influence of compatibilizer degradation on formation and properties of PA6/organoclay nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 370–378.
123. Cervantes-Uc, J.M., Cauich-Rodriguies, J.W., Vasquez-Torres, H., Garfias-Mesias, L.F., Paul, D.R. Thermal degradation of commercially available organoclays studied by TGA-FTIR. *Thermochimica Acta* 2007, 457, 92–102.
124. Frankowski, D.J., Capracotta, M.D., Martin, J.D., Khan, S.A., Spontak, R.J. Stability of organically modified montmorillonites and their polystyrene nanocomposites after prolonged thermal treatment. *Chem. Mater.* 2007, 19, 2757–2767.
125. Gilman, J.W., Awad, W.H., Davis, R.D., Shields, J., Harris, R.H. Jr., Davis, C., Morgan, A.B., Sutto, T.E., Callahan, J., Trulove, P.C., DeLong, H.C. Polymer/layered silicate nanocomposites from thermally stable trialkylimidazolium-treated montmorillonite. *Chem. Mater.* 2002, 14, 3776–3785.
126. Bottino, F.A., Fabbri, E., Fragala, I.L., Malandrino, G., Orestano, A. Pilati, F., Pollicino, A. Polystyrene-clay nanocomposites prepared with polymerizable imidazolium surfactants. *Macromol. Rapid Commun.* 2003, 24, 1079–1084.
127. Wang, Z.M., Chung, T.C., Gilman, J.W. Manias, E. Melt-processable syndiotactic polystyrene/montmorillonite nanocomposite *J. Polym. Sci. Part B.* 2003, 4 3173–3187.
128. Awad, W.H., Gilman, J.W., Nyden, M., Harris, R.H., Sutto, T.E., Callahan, J., Trulove, P.C., DeLong, H.C., Fox, D.M. Thermal degradation studies of alkyl-imidazolium salts and their application in nanocomposites. *Thermochimica Acta* 2003, 409, 3–11.
129. Langat, J., Bellayer, S., Hudrlik, P., Hudrlik, A., Maupin, P.H., Gilman, J.W., Raghavan, D. Synthesis of imidazolium salts and their application in epoxy montmorillonite nanocomposites. *Polymer* 2006, 47, 6698–6709.
130. Kracalik, M., Studenovsky, M., Mikesova, J., Kovarova, J., Sikora, A., Thomann, R., Friedrich, C. Recycled PET-organoclay nanocomposites with enhanced processing properties and thermal stability. *J. App. Polym. Sci.* 2007, 106, 2092–2100.
131. Costache, M.C., Heidecker, M.J., Manias, E., Gupta, R.K., Wilkie, C.A. Benzimidazolium surfactations for modifications of clays for use with styrenic polymers. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 1753–1762.
132. Modesti, M., Besco, S., Lorenzetti, A., Causin, V., Marega, C., Gilman, J.W., Fox, D.M., Trulove, P.C., De Long, H.C., Zammarano, M. ABS/clay nanocomposites obtained by solution technique: Influence of clay organic modifiers. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 2206–2213.

133. Xie, W., Xie, R., Pan, W.-P., Hunter, D., Koene, B., Tan, L.-S., Vaia, R. Thermal stability of quaternary phosphonium modified montmorillonites. *Chem. Mater.* 2002, 14, 4837–4845.
134. Byrne, C., McNally, T. Ionic liquid modification of layered silicates for enhanced thermal stability. *Macromol. Rapid Commun.* 2007, 28, 780–794.
135. Zhang, J., Wilkie, C.A. A carbocation substituted clay and its styrene nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2004, 83, 301–307.
136. Yei, D.-R., Kuo, S.-W., Fu, H.-K., Chang, F.-C. Enhanced thermal properties of PS nanocomposites formed from montmorillonite treated with a surfactant/cyclodextrin inclusion complex. *Polymer* 2005, 46, 741–750.
137. Chigwada, G., Wang, D., Wilkie, C.A. Polystyrene nanocomposites based on quinolinium and pyridinium surfactants. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, 91, 848–855.
138. Manzi-Nshuti, C., Wilkie, C.A. Ferrocene and ferrocenium modified clays and their styrene and EVA composites. *Polym. Degrad. Stab.* 2007, 92, 1803–1812.
139. Gintert, M.J., Jana, S.C., Miller, S.G. An optimum organic treatment of nanoclay for PMR-15 nanocomposites. *Polymer* 2007, 48, 7573–7581.
140. Waste electrical and electronic equipment directive (WEEE). http://europa.eu.int/eurex/pri/en/oj/dat/2003/l_037/l_03720030213en00240038.pdf
141. Simonson, M., Blomqvist, P., Boldizar, A., Miller, K., Rosell, L., Tullin, C., Strippel, H., Sundqvist, J.O. Fire-LCA model: TV case study. *SP Report 2000:13*. Printed in 2000.
142. Stapleton, H.M., Dodder, N.G., Offenberger, J.H., Schantz, M.M., Wise, S.A. Polybrominated diphenyl ethers in house dust and clothes dryer lint. *Environ. Sci. & Technol.* 2005, 39, 925–931.
143. Troitzsch, J.H. The globalization of fire testing and its impact on polymers and flame retardants. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 88, 146–149.
144. Tange, L., Drohmann, D. Waste electrical and electronic equipment plastics with brominated flame retardants — from legislation to separate treatment — thermal processes. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 88, 35–40.
145. Lam, C.W., James, J.T., McCluskey, R., Hunter, R.L. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol. Sci.* 2004, 77, 126–134.
146. Oberdorster, G. Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2001, 74, 1–8.
147. Oberdorster, G., Sharp, Z., Atudorei, V., Elder, A., Gelein, R., Kreyling, W., Cox, C. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol.* 2004, 16, 437–445.

148. Qin, H., Zhao, C., Zhang, S., Chen, G., Yang, M. Photo-oxidative degradation of polyethylene/montmorillonite nanocomposite. *Polym. Degrad. and Stab.* 2003, 81, 497–500.
149. Tidjani, A., Wilkie, C.A. Photo-oxidation of polymeric-inorganic nanocomposites: Chemical, thermal stability, and fire retardancy investigations. *Polym. Degrad. Stab.* 2001, 74, 33–37.
150. Morlat, S., Mailhot, B., Gonzalez, D., Gardette, J.-L. Photo-oxidation of polypropylene/montmorillonite nanocomposites. 1. Influence of nanoclay and compatibilizing agent. *Chem. Mat.* 2004, 16, 377–383.
151. Diagne, M., Gueye, M., Vidal, L., Tidjani, A. Thermal stability and fire retardant performance of photo-oxidized nanocomposites of polypropylene-graft-maleic anhydride/clay. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 89, 418–426.
152. Diagne, M., Gueye, M., Dasilva, A., Vidal, L., Tidjani, A. The effect of photo-oxidation on thermal and fire retardancy of polypropylene nanocomposites. *J. Mater. Sci.* 2006, 41, 7005–7010.
153. Woo, Ricky S.C., Chen, Yanghai, Zhu, Honggang, et al. Environmental degradation of epoxy-organoclay nanocomposites due to UV exposure. Part I: Photo-degradation. *Comp. Sci. Technol.* 2007, 67, 3448–3456.
154. Morlat-Therias, S., Mailhot, B., Gardette, J.-L., Da Silva, C., Haidar, B., Vidal, A. Photooxidation of ethylene-propylene-diene/montmorillonite nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 90, 78–85.
155. Pandey, J.K., Reddy, K.R., Kumar, A.P., Singh, R.P. An overview on the degradability of polymer nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 88, 234–250.
156. Laachachi, A., Leroy, E., Cochez, M., Ferriol, M., Cuesta, J.M.L. Use of oxide nanoparticles and organoclays to improve thermal stability and fire retardancy of poly(methyl methacrylate). *Polym. Degrad. Stab.* 2005, 89, 344–352.
157. Beyer, G. Flame retardancy of nanocomposites based on organoclays and carbon nanotubes with aluminum trihydrate. *Polym. Adv. Technol.* 2006, 17, 218–225.

Часть 2

Нанобиокомпозиты

АРМИРОВАННЫЕ ВОЛОКНАМИ БИОКОМПОЗИТЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Хой-Ян Чунг

Гонконгский политехнический университет, Коулун, Гонконг

6.1. Введение

Биоинженерия занимается задачами восстановления потерянных, поврежденных или отмерших тканей, обращаясь для решения проблем к естественным наукам и пользуясь математическими знаниями. Любой материал, используемый для этой цели, может рассматриваться как биоматериал. По Вильямсу [1], биоматериал — это материал, применяемый в качестве имплантатов или медицинских инструментов, которые, как предполагается, будут взаимодействовать с биологическими системами. К ним относятся искусственные сердечные клапаны и сердце, бедренные и коленные суставы, зубные имплантаты, внутренние и внешние фиксаторы при переломах и имплантаты искусственной кожи. Одной из важнейших особенностей композиционных материалов является то, что они могут быть изготовлены под различные эксплуатационные условия. Наиболее распространенные виды обычных композиционных материалов, как правило, изготавливаются на основе эпоксидов, ненасыщенных полиэфиров, полиуретанов или фенольных смол, армированных стеклянными, углеродными или арамидными волокнами. Такая структура композитов, когда компоненты прочно связаны между собой, приводит к проблеме их утилизации после завершения срока службы, ведь эти соединения относительно стабильны и поэтому возникают сложности с их разделением и рециклингом. В последние годы при создании новых типов безвредных для окружающей среды композитов все чаще используются натуральные волокна, такие как льняные очесы, джут, конопля и сизаль. Последние достижения в этой области исследований предсказывают значительные возможности для улучшения материалов, получаемых из возобновляемых источников, что чрезвычайно важно для парадигмы глобального устойчивого развития.

Материал, который предназначен для использования в медицине, должен удовлетворять многим специфическим требованиям. Наиболее фундаментальные из них относятся к биосовместимости — такие материалы не должны оказывать неблагоприятный эффект на ткани пациента; поэтому традиционные композитные структуры с небиосовместимыми с питающими тканями организма матрицей или армирую-

щим наполнителем замещают биоинженерными композитами. В таблице 6.1 указаны важные факторы, которые должны быть учтены при выборе материала для биомедицинского назначения.

Таблица 6.1

Ключевые факторы при выборе материалов биомедицинского назначения [29]

Фактор	Описание		
	Химические и биологические характеристики	Физические характеристики	Механические и структурные характеристики
Свойства материала первого уровня	Химический состав (в массе и на поверхности)	Плотность	Модуль упругости Модуль сдвига Коэффициент Пуассона Прочность при растяжении Прочность при сжатии
Свойства материала второго уровня	Адгезия	Топология поверхности Структура Шероховатость	Твердость Модуль упругости при изгибе Прочность при изгибе
Специфические функциональные требования (в зависимости от применения)	Биофункциональность Биоинертность Биоактивность Биостабильность Поведение при биоразложении	Форма и геометрия Коэффициент термического расширения Электрическая проводимость Цвет, эстетика Показатель преломления Прозрачность	Твердость или жесткость Трещиностойкость Усталостная прочность Сопротивление разрушению при многократных знакопеременных нагрузках Устойчивость к трению и износу Адгезионная прочность Ударная вязкость Испытание на прочность Абразивная стойкость
Переработка и формование	Воспроизводимость, качество, стерилизуемость, удобство упаковки и пригодность к вторичной переработке		
Характеристики объекта: ткань, орган, образцы, возраст, пол, раса, состояние здоровья, активность, ответ системы Медицинская/хирургическая процедура, период использования Стоимость			

Биокомпозиты состоят из биоразлагаемого полимера в качестве матрицы и, обычно, биоволокон как армирующих элементов. Последние, как правило, имеют низкую стоимость, низкую плотность, высокую стойкость к ударным нагрузкам, приемлемую удельную прочность, хорошие тепловые свойства, легко отделяются и разлагаются, дают повышенный энергетический эффект при утилизации. Биоволокна обеспечивают снижение износа формирующего оборудования при переработке, а также способствуют уменьшению кожного и дыхательного раздражения. Эти волокна обычно слишком тонкие, чтобы напрямую применяться для технических целей, поэтому они используются в композиционных материалах для получения биокомпозита. Матрица служит в качестве связующего, перераспределяя нагрузку на волокна. Для поиска областей применения этих природных волокон и биокомпозитов на их основе необходимо изучить физико-химические свойства этих материалов.

6.2. Шелковые волокна шелковичного червя

Природные волокна подразделяются на растительные, животные и минеральные. Обычно растительные волокна являются лигноцеллюлозными и состоят из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина (лен, джут, сизаль и кенаф). Природные волокна животного происхождения состоят из протеина, как, например, шерсть, паутина и шелк шелковичного червя. Повышенная устойчивость к внешним воздействиям окружающей среды шелковых волокон по сравнению с глобулярными белками является следствием наличия большого количества водородных связей, гидрофобной природы большинства белков и упорядоченности структуры.

Один из белков шелка, известный как фиброин, образуется в шелкоотделительных железах насекомых и пауков в виде водного раствора. В процессе прядения гусеница тутового шелкопряда вертит головой, при этом волокно подвергается растягивающему напряжению, что приводит к образованию частично кристаллических нерастворимых нитей, в которых основная масса полимерных цепей в кристаллических областях ориентирована параллельно оси волокна. Более высокая скорость прядения приводит к образованию более прочных, но хрупких волокон, тогда как при более низких скоростях формируются менее прочные и более эластичные волокна. При еще большей скорости прочность ухудшается в основном из-за потери эластичности [2].

Коконы — это натуральные полимерные композитные оболочки из непрерывных шелковых нитей длиной от 1000 до 1500 м, склеенных серицином [3]. Эта протеиновая оболочка стойка к окислению, ультрафиолету и воздействию бактерий, легко сорбирует и выделяет влагу. Слой протеина может быть сшитым, сополимерным, он также может состоять из смеси с другими высокомолекулярными соединениями, особенно искусственного происхождения, для получения материалов с улучшенными свойствами. В среднем, производство коконов в мире

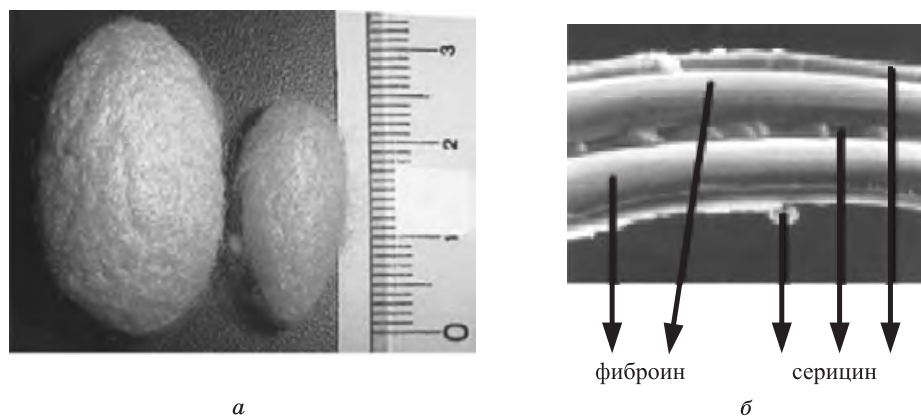


Рис. 6.1. Шелк: необработанный кокон (а) и волокно из него (б)

составляет около 1 миллиона тонн, что эквивалентно 400 000 тоннам сухих коконов (рис. 6.1). В виде ткани шелковый биоматериал используется при лечении костей, сухожилий или связок. Желательно получать медленно разлагаемые композиты, которые могут обеспечивать целостность тканного материала после имплантации при непрерывном воздействии нагрузок в процессе развития биологической функциональной ткани. После имплантации постоянная нагрузка на развивающуюся или перестраиваемую живую ткань не должна мешать восстановлению ткани и функционированию организма в течение всей жизни пациента.

Шелковые волокна, спряденные из коконов тутового шелкопряда, состоят из внутреннего фиброинового слоя и внешнего слоя серицина — все на основе белка. Объемная доля серицина от внешнего к внутреннему слою кокона уменьшается, а содержание фиброина растет. Также известно, что фиброин шелка состоит как из гидрофильных, так и из гидрофобных структурных областей, подобно строению блок-сополимеров. Эти волокна имеют сильно неоднородную в поперечном сечении геометрию — как по форме, так и по размерам. Варьированием условий намотки шелка тутового шелкопряда можно добиться нужной прочности, жесткости или эластичности [4]. У каждой необработанной шелковой нити есть продольная бороздка между двумя отдельными нерегулярно переплетенными нитями фиброина, заключенными в серицин. Шелковый серицин — это протеин, который обволакивает шелковые фиброиновые волокна и склеивает их вместе для формирования кокона. Соотношение по массе фиброина и серицина в шелке составляет около 75 : 25%. Соответственно, шелковые волокна можно характеризовать как биоразлагаемые и высококристаллические системы с хорошо упорядоченной структурой.

6.2.1. Механические свойства

Состав, структура и свойства шелковых волокон, производимых пауками, туловыми шелкопрядами, скорпионами, клещами и мухами, могут существенно различаться в зависимости от источника и условий намотки этими насекомыми. Прядение при контролируемых условиях приводит к образованию более упорядоченной в поперечном сечении структуры шелковых волокон, более строго воспроизводимой регулярности молекул и более редко встречающихся микроструктурных дефектов. Размер и вес коконов уменьшаются с понижением температуры. Кокон может выдерживать внешние статические нагрузки и ударные динамические нагрузки [4]. Нормальный компактный кокон демонстрирует высокую способность к эластической деформации с предельным значением упругой деформации свыше 20% как в продольном, так и в поперечном направлениях. Анизотропные свойства в основном обусловлены неоднородным распределением и ориентацией сегментов шелка, а также тем, что внутренний слой шелка имеет меньше пор (более высокую плотность) и меньший средний диаметр волокна; поэтому в направлении от наружных к внутренним слоям в волокне возрастает модуль упругости и прочности. Таким образом, чем тоньше шелковая нить, тем выше модуль упругости и прочность при растяжении, максимальные значения этих параметров наблюдаются для внутреннего слоя. В то же время при температурах выше температуры стеклования кокон и его слои становятся более мягкими и ведут себя как материалы в высокоэластическом состоянии. Шелковые волокна имеют более высокую прочность при растяжении, чем стеклянные волокна или синтетические органические волокна, они эластичны и отличаются хорошей упругостью [5]. Они также характеризуются высокой прочностью при сжатии, стабильны при нормальных для организма температурах. Покрывание из серицина является водорастворимым белковым клеем. В таблице 6.2 представлено сравнение механических свойств обычных видов шелка (тутового шелкопряда и паука) с несколькими видами волокон на основе биоматериалов и тканей, обычно используемых в настоящее время.

Фиброин — частично кристаллический полимер натурального волокнистого белка, состоящий в основном из двух фаз [6]: β -плоских кристаллов и некристаллической фазы, включающей микропоры. Покрывание из серицина имеет аморфную структуру, серицин представляет собой адгезионное связующее, формирующее оболочку для фиброина и определяющее структурную целостность кокона. Ключевым процессом является обесклеивание, во время которого серицин удаляется. Хотя эта поверхностная модификация, осуществляемая при термохимической обработке кокона, может значительно повлиять на поведение при растяжении и механические свойства шелка, как правило, она проводится с целью повышения межфазной адгезии волокна и матрицы.

Шелка нерастворимы в большинстве растворителей, включая воду, разбавленные кислоты и щелочи [7]. Реакционная способность шелка по отношению к химическим агентам коррелирует с большими значе-

ниями внешней и внутренней площадей поверхности [8]. При изготовлении композитов на основе шелка количество связующего, взаимодействующего с волокнами, напрямую связано со степенью набухания некристаллических областей, т. е. аморфных областей и микрополостей внутри волокон.

Таблица 6.2

**Свойства при растяжении натуральных волокон
растительного и животного происхождения и человеческих тканей**

Материал волокна	Прочность при растяжении, МПа	Относительное удлинение при растяжении, %	<i>E</i> , ГПа
<i>Натуральные волокна</i>			
Лен	300–1500	3–10	24–80
Джут	200–800	16–8	10–55
Сизаль	80–840	2–25	9–38
Кенаф	295–1191	3,5	2,86
Абака	980		0,00073
Ананас	170–1627	2,4	60–82
Банан	529–914	3	27–32
Волокно кокосовой пальмы	106–175	14,21–49	4–6
Китайская крапива	348–938	1,2–8	44–128
Конопля	310–900	1,6–6	30–70
Шерсть	120–174	25–35	2,3–3,4
Шелк паука	875–972	17–18	11–13
Хлопок	264–800	3–8	5–12,6
<i>Ткани человека</i>			
Твердая ткань (зубы, кости, трубчатая кость)	130–160	1–3	17–20
Кожа	7,6	78	
Сухожилие	53–150	9,4–12	1,5
Упругий хрящ	3	30	
Сердечные клапаны	0,45–2,6	10–15,3	
Аорта	0,07–1,1	77–81	

6.2.2. Применение

6.2.2.1. Шовные материалы

Ранее шелковые волокна использовались в биомедицинских целях в основном в качестве нити для сшивания ран, при этом фиброиновые волокна обычно покрывали восками или силиконом, чтобы улучшить свойства и уменьшить износ. Но на самом деле существует множество открытых вопросов касательно использования этих волокон (отсутствие детальных характеристик волокон: степень экстракции на поверхности серицина, химическая природа иногда применяемых воскоподобных покрытий и т. п.), и ряд проблем их переработки. Например, серициновые клееподобные протеины являются основной причиной возникающих проблем биосовместимости и гиперчувствительности тканей организма к шелку. Потенциальные проблемы с этим классом волокнистого протеина вызывает большое разнообразие сырья. Однако прочность узлов, регулирование характеристик и возможность соприкосновения с поверхностью поврежденной ткани делают шелк популярным материалом для использования в качестве шовного материала в сердечно-сосудистой хирургии [9].

6.2.2.2. Материалы-матрицы для тканевой инженерии

Трехмерный каркас (матрица) позволяет воплотить конструирование *in vitro* клеточной полимерной конструкции, которая, подстраиваясь, может легко менять форму для установки в месте дефекта и помогает развитию биологически жизнеспособной функциональной ткани [10]. Однако в период с 1960-х до начала 1980-х гг. использование необработанного шелка негативно повлияло на возможность применения этого биоматериала с точки зрения перспектив практической хирургии, например из-за реакции ткани пациента на шелк и возможных осложнений. В последнее время шелковые матрицы были «заново открыты» и рассмотрены в качестве потенциальных биоматериалов для заживления ран и *in vitro*-каркасов для формирования ткани.

Шелк как протеин способен к протеолитическому распаду в естественных условиях и в течение длительного периода времени будет медленно абсорбирован. Скорость распада в основном определяется здоровьем и состоянием пациента, состоянием ткани вокруг имплантата, видом и размером шелковых волокон. Низкая скорость распада шелка *in vitro* и *in vivo* подходит для его использования в качестве материала биоразлагаемых матриц для медленного врастания ткани, так как биоразлагаемый каркас должен оказывать поддержку в месте имплантации, в том числе принимать на себя механическую нагрузку и поддерживать рост ткани до того момента, пока регенерируемая ткань не начнет выполнять свои функции.

Кроме того, структура матрицы, в том числе размер и возможность соединения пор, определяет транспорт питательных веществ, метаболитов и регуляторных молекул в клетки и из клеток. Матрица должна

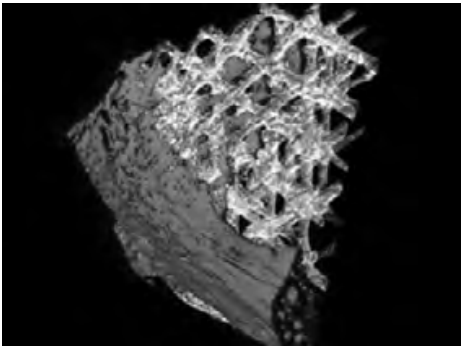
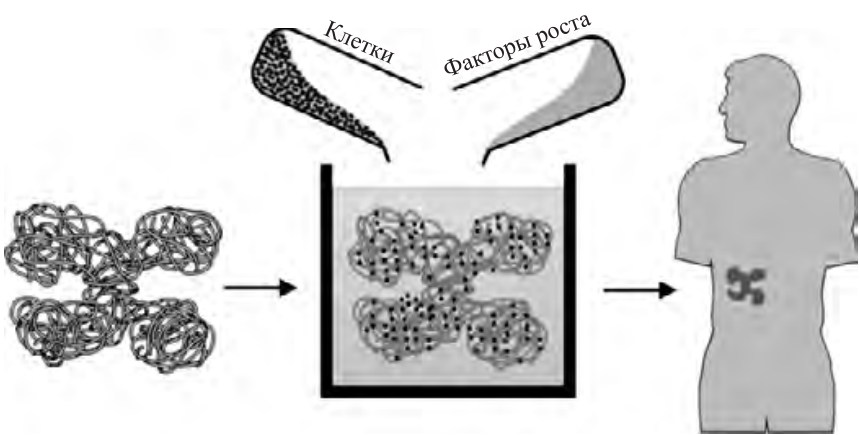


Рис. 6.2. Основные принципы конструирования ткани (www.cs.cmu.edu/people/tissue/tutorial.html)

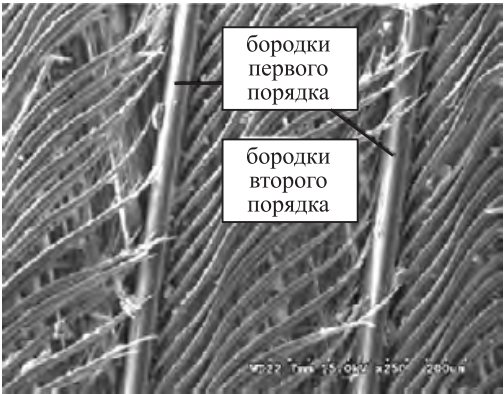


Рис. 6.3. Трехмерный каркас ткани (www.eng.uab.edu/polymers/)

поддерживать распространение, рост и дифференциацию клеток. Мейнел с соавторами [11] проводили углубленное изучение разработки ткани хряща с использованием матрицы из протеинов шелка и сообщили, что шелковые матрицы особенно удобны для инженерии ткани хряща, начиная с человеческих мезенхимальных стволовых клеток (hMSCs), которые выделяют из костного мозга, главным образом из-за их высокой пористости, медленного распада и структурной целостности. На рисунках 6.2 и 6.3 показаны основные принципы тканевой инженерии и трехмерных матричных систем.

Последние исследования, касающиеся шелка, сконцентрированы на разработке проволоочной матрицы на основе ткани травмированной передней крестовидной связки пациента при использовании его стволовых клеток [14]. Фиброин шелка позволяет реализовать разнообразный дизайн матриц для тканевой инженерии при замене костей, связок, сухожилий, кровеносных сосудов и хрящей. Он также может быть переработан в пены, пленки, волокна и петли.

6.2.3. Биокompозиты на основе шелка

Аннамария с соавторами [15] обнаружили, что не вызывающие раздражение биоразлагаемые полимеры могут быть получены смешением серицина шелка с другими связующими. Номура с соавторами [16] показали, что полиуретановые пены, содержащие серицин, имеют превосходные по адсорбции и десорбции влаги характеристики. Хатакеяма [17] также сделал сообщение о производстве серицинсодержащего полиуретана с отличными механическими и тепловыми свойствами. Серицин хорошо смешивается с водорастворимыми полимерами, особенно с поливиниловым спиртом (ПВС). Ишикава с соавторами [18] исследовали микроструктуру и физические свойства пленок смесей серицина и ПВС. Была запатентована технология получения сшитой гидрогелевой мембраны с высокой прочностью, высоким содержанием влаги и долговечностью для применения в качестве функциональной пленки, полученной с использованием диметилмочевины в качестве сшивающего агента [19].

Пленка из фиброина шелка отличается хорошим пропусканием растворенного кислорода во влажном состоянии, но она слишком хрупка, чтобы использовать ее в сухом виде. Известно, что хитозан является биосовместимым и биоразлагаемым материалом, которому легко можно придавать форму пленки или волокна, поэтому научными группами Парка [20] и Квеона [21] предложена идея смешивания фиброина шелка и хитозана для получения потенциальных биомедицинских композитов. Кристалличность и механические свойства фиброина шелка значительно возрастают с увеличением содержания хитозана.

Другой тип биокompозитов — это губки смесей фиброин шелка/альгинат. Для биотехнологических и биомедицинских областей очень важны воспроизводимость свойств фиброина шелка, его устойчивость к воздействию сред организма и отсутствие токсического действия на

ткани организма, в особенности в клиническом применении. Так как общие свойства, как правило механические, губок из фиброина шелка в сухом состоянии не удовлетворяют требованиям материала, используемого для перевязок ран, можно получать различные смеси с синтетическими или природными полимерами (например, с полисахаридом альгинатом натрия).

Катори и Кимура [22] и Ли с соавторами [23] исследовали свойства биоккомпозитов шелк/полибутилен сукцинат. Они обнаружили, что механические свойства, в том числе прочность при растяжении, ударная прочность, трещиностойкость и термическая стабильность биоккомпозитов, в существенной степени определяются процессом их получения. Анализ этих композитов с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) показал наличие хорошей адгезии между волокнами шелка и полимерной матрицей.

Механические свойства шелка гусеницы тутового шелкопряда, крученого шелка гусеницы тутового шелкопряда и волокна шелка диких шелкопрядов также были исследованы методом растяжения (определялась прочность при растяжении). Было показано, что наибольшие прочность и эластичность по сравнению с остальными видами наблюдаются для волокна шелка диких шелкопрядов. Однако твердость всех образцов была практически одинаковой. Это может быть вызвано различием получения кокона и условий прядения и др. На основе анализа Вейбулла было показано, что шелк гусеницы тутового шелкопряда демонстрирует лучшую воспроизводимость свойств, чем шелк диких шелкопрядов, что может быть обусловлено изменением микроструктуры волокна при обесклеивании шелка.

При армировании биоразлагаемого полимера волокнами шелка механические свойства полимера существенно меняются. Показано, что использование волокон шелка для армирования полимолочной кислоты (ПМК) может повысить модуль упругости и ударную вязкость на 40% и 53% соответственно [24]. Кроме того, от содержания шелкового волокна в композитах зависит биоразложение биоккомпозитов шелк/ПМК. Следовательно, в человеческом организме может контролироваться рассасываемость биоккомпозитов, что является ключевым параметром для применения этого нового вида материалов в качестве пластинок для скрепления обломков кости.

6.3. Волокна куриных перьев (ВКП)

Волокна животного происхождения, такие как волокна куриных перьев (ВКП), недавно привлекли внимание из-за возможности получения на их основе продуктов различного дизайна и с применением разных технологий производства. Постепенно ВКП стали использовать для армирования биоразлагаемых полимерных материалов. Преимущества этих натуральных волокон по сравнению с традиционными армирующими волокнами в биоккомпозиционных материалах заключаются в их деше-

визне, низкой плотности, приемлемой удельной прочности, пригодности к вторичной переработке и биоразложению. Натуральные волокна обычно имеют высокие механические свойства.

Благодаря увеличивающейся информированности населения о необходимости защиты окружающей среды, применение натуральных волокон в биокомпозиционных материалах быстро возросло в последние годы. По причине того что ВКП — возобновляемый сырьевой материал, который к тому же можно подвергать вторичной переработке, он стал цениться как новый класс армирующих элементов для биокомполитов на основе полимеров. Однако для дальнейшего развития этого направления необходимо досконально изучить механические свойства ВКП, морфологию поверхности, влияние окружающей среды (воздействие влаги и агрессивных сред), адгезию между фиброином шелка и матрицей и разработать технологии производства и переработки.

6.3.1. Куриные перья

Согласно последним данным, фабрики по производству куриного мяса вырабатывают около 4000 фунтов куриных перьев в час. В большинстве западных стран эти перья используются для получения волокон из перьев, а также элементов воздушных фильтров — это заменяет традиционную древесину (для уменьшения вырубки деревьев) и облегчает конструкции.

Куриные перья примерно на 91% состоят из протеина (кератина), содержат немного жиров (1%) и воды (8%). Последовательность аминокислот в белках куриных перьев аналогична последовательности в белках других перьев и имеет много общего с составом кератина когтей рептилий [25]. Эта последовательность главным образом построена из цистина, глицина, пролина и серина и почти не содержит гистидина, лизина или метионина. Внешне волокно куриных перьев состоит из двух частей — полого гибкого стержня и опахала, точнее, из двух его частей, расположенных симметрично относительно стержня (рис. 6.4). От стержня расходятся тонкие мягкие волокна. У маленьких перьев соотношение объема таких волокон к объему стержня больше. Наличие твердого ствола в перьях приводит к получению более гранулированного, легкого и объемного материала. Типичный стержень имеет размер порядка нескольких сантиметров в длину, ширина пера варьируется от 5 до 50 мкм. Плотность ВКП меньше, чем у других синтетических и природных армирующих материалов, поэтому введение ВКП в композит может потенциально снизить плотность композита, в то время как плотность типичного композита с синтетическим армированием с увеличением содержания волокна возрастает. Следовательно, введением ВКП в пластики могут быть получены легкие композиционные материалы, что к тому же уменьшает стоимость транспортировки. Бородки в верхней части пера — твердые, компактно и близко расположенные друг к другу, в нижней же части они мягкие, свободно расположенные и пушистые. Пуховые перья обеспечивает изоляцию, а маховые перья



Рис. 6.4. Снимок пера, полученный методом сканирующей электронной микроскопии (www.ornithology.com/lectures/Feathers.html)

формируют профиль крыла, защищают тело от влаги, а кожу от ран, придают цвет. На рисунке 6.5 показаны волокна махового и пухового перьев (разрез в поперечном сечении). Видно, что волокно махового пера имеет пористую структуру, тогда как волокно пухового пера — сплошное. Для армирования использование пуховых перьев более целесообразно, чем маховых.

Содержание влаги в ВКП — это важный фактор, который может оказывать существенное влияние на их вес и механические свойства. Содержание влаги в переработанных ВКП также может меняться в зависимости от условий переработки и окружающей среды. Температура стеклования (T_g) фракции волокон внутренних перьев и стержней составляет примерно 235°C , для внешних стержней она ниже — 225°C . Более высокая T_g соответствует более плотной кератиновой структуре, с которой вода связывается более крепко. Волокна и внутренние стержни удерживают воду до тех пор, пока температура держится ниже 100°C . При 110°C можно получить полностью высушенные волокна и внутренние стержни [26].

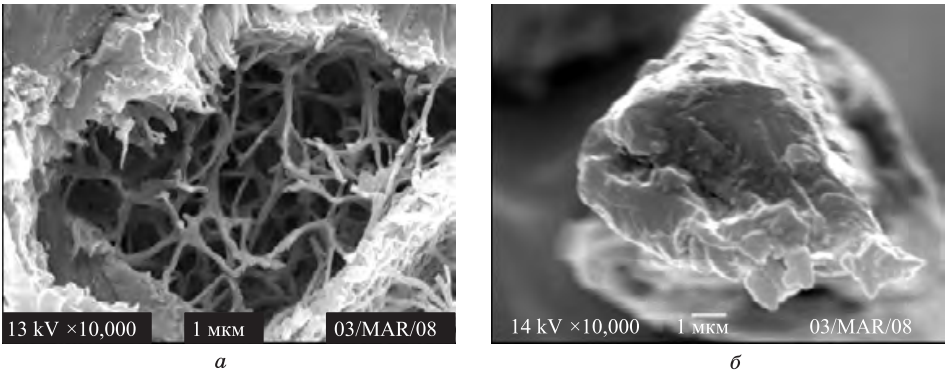


Рис. 6.5. Волокна маховых перьев (а) и пуховых перьев курицы (б)

Размеры волокон куриных перьев (иногда собранных в пучок) будут определяющим образом влиять на распределение наполнителя в связующем и свойства готового композита. Для ускорения пропитки волокон важен контроль температуры связующего (следовательно, его вязкости), а также времени обработки ультразвуком. Длина волокон будет значительно влиять на перераспределение напряжения в системе и на сдвиговую прочность композитов. Сами волокна также будут ограничивать движение полимерных цепей внутри композита, и это может привести к увеличению их прочности и тепловых свойств, но, одновременно, и уменьшению трещиностойкости. Эти свойства будут детально рассмотрены ниже.

На рисунке 6.6 и в таблице 6.3 приведены характеристики волокон пухового куриного пера в сравнении с другими видами волокон. В последние годы интерес к биокompозитам на основе куриных перьев усиливается, так как есть перспективы применения этих материалов для решения глобальной проблемы отходов.

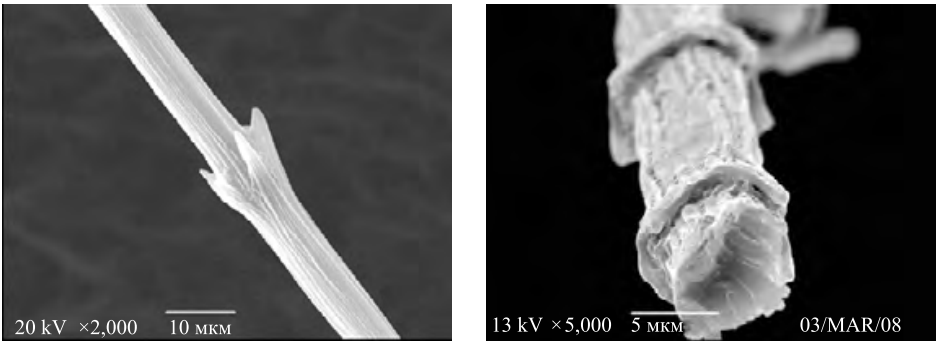


Рис. 6.6. СЭМ-изображение волокон куриных перьев

Таблица 6.3

Сравнение и свойства природных волокон

Волокно	Тонкость волокна, ден*	Длина, см	Прочность, г/ден	Удлине- ние, %	Модуль, г/ден	Остаточ- ная влаж- ность, %
Куриные бородки	76	1,5–4,5	$1,44 \pm 0,46$	$7,7 \pm 0,85$	$35,6 \pm 11,15$	9,7
Бородки пера индейки	142	5,2	0,83	7,96	15,55	–
	55,2	4,1	0,36	16,43	4,47	–
Шерсть	11	4,5–11,5	1,2–1,8	30–40	30–45	16,0

6.3.2. Биокomпозиты ВКП/ПМК

При смешении ВКП с биополимерами, такими как полимолочная кислота (ПМК), может быть получен биоразлагаемый композит, которому при переработке можно придать нужную форму и получить пластмассовое изделие или имплантат. В работе [28] для приготовления композитов куриные перья выдерживали в спирте 24 ч, затем промывали их водорастворимым органическим растворителем и высушивали при 60 °С в течение 24 ч. Перед добавлением к полимеру ВКП шириной около 5 мкм и длиной от 10 до 30 мм отделяли от ствола пера.

На рисунке 6.6 представлено СЭМ-изображение ВКП, а на рисунке 6.7 показана зависимость максимального напряжения и модуля упругости композита от содержания ВКП. Модуль упругости композита ВКП/ПМК возрастает с увеличением содержания ВКП и достигает максимального значения 4,38 ГПа (возрастание на 35,6%) при содержании ВКП 5% (масс.). Это доказывает эффективность введения небольших количеств ВКП в матрицу.

Также было установлено, что при добавлении ВКП прочность при растяжении ПМК падает. Этот факт, который подтверждают и другие исследователи [1, 11], указывает на плохую адгезию между ВКП и матрицей, что обусловлено неровностью поверхности ВКП (см. рис. 6.6, б) и гидрофобностью ВКП и ПМК. Таким образом, напряжение с матрицы не может передаваться более прочным волокнам. Другой возможной причиной может быть разупорядоченность ВКП внутри композита или разрыв волокон, происходящий из-за разрушения матрицы. На рисунках 6.8 и 6.9 представлены кривые напряжение–деформация чистой ПМК и композита ВКП/ПМК с 5% (масс.) волокон куриных перьев. Видно, что плато между максимальным напряжением и разрушением в случае композита более протяженное.

* Денье — основанная на стандарте натурального шелка единица тонкости волокна, 1 денье = 1 г на 9000 метров.

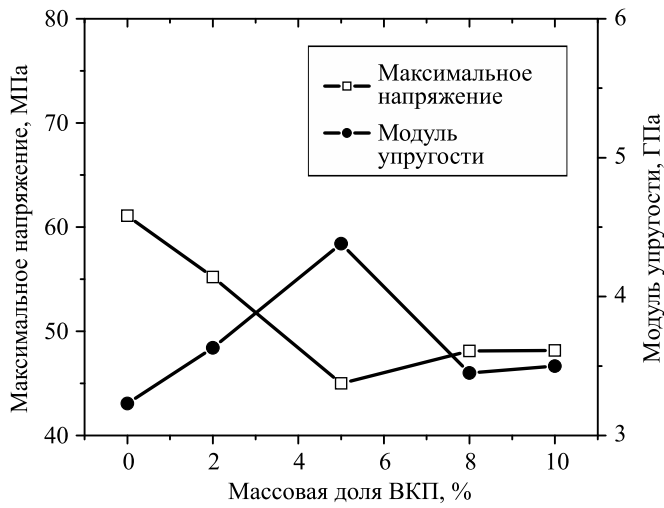


Рис. 6.7. Зависимость прочности при растяжении от содержания волокон куриных перьев

Из этого можно сделать вывод: добавление небольшого количества ВКП оказывает положительное влияние на относительное удлинение при растяжении ПМК, что вполне ожидаемо, так как ВКП играют роль перемычек, препятствуя распространению трещин в композите, и разрушение композита контролируется образованием этих перемычек. Эти выводы могут быть подтверждены морфологией поверхности разрушения, изучаемой при помощи сканирующей электронной микроскопии. Тепловые свойства, такие как температура стеклования (T_c), температура кристаллизации (T_k), температура плавления ($T_{пл}$)

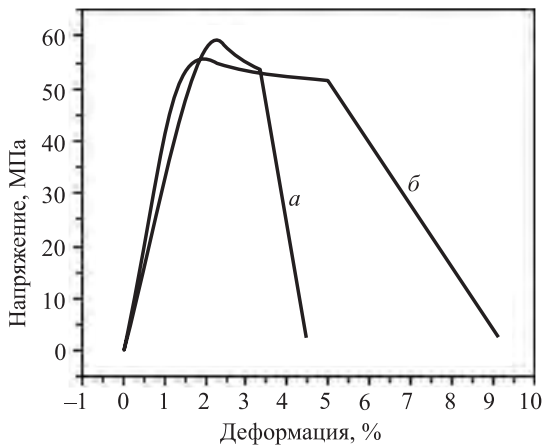


Рис. 6.8. Кривые напряжение–деформация образца чистой полимолочной кислоты (*a*) и композита ВКП/ПМК (*б*)

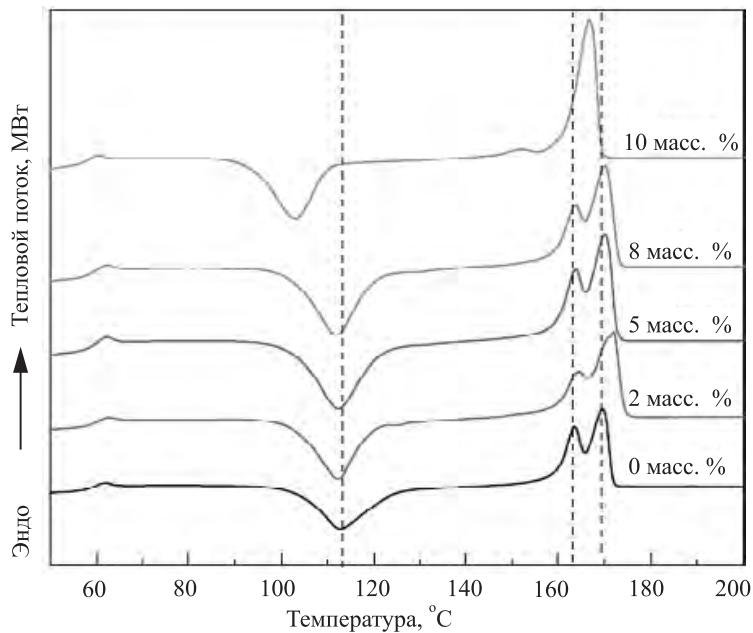


Рис. 6.9. Кривые дифференциальной сканирующей калориметрии ПМК и композитов ВКП/ПМК

и энтальпия плавления ($\Delta H_{пл}$), полученные методом ДСК, приведены на рисунке 6.9 и в таблице 6.4.

Таблица 6.4

Результаты дифференциальной сканирующей калориметрии для чистой полимолочной кислоты (ПМК) и композитов на основе волокон куриных перьев и ПМК

Содержание ВКП, % (масс.)	$T_c, ^\circ\text{C}$	$T_k, ^\circ\text{C}$	$\Delta H_k, \text{Дж/г}$	$T_{пл}, ^\circ\text{C}$		$\Delta H_{пл}, \text{Дж/г}$
0	58,7	112,9	38,8	163,4	169,5	43,2
2	59,8	112,2	42,1	164,0	171,9	44,7
5	59,3	112,4	42,6	163,7	170,0	43,7
8	59,3	112,0	43,5	163,5	166,7	46,9
10	57,5	102,9	44,5	166,7		46,9

6.4. Выводы

В последние несколько лет механические и тепловые свойства биоком-
позитов шелковое волокно/полимолочная кислота и волокна куриных
перьев/полимолочная кислота подробно исследованы. По сравнению
с немодифицированными полимерами эти биокомпозиты характери-
зуются существенно более высоким модулем упругости и способностью
к пластической деформации. Согласно результатам динамического
механического анализа, введение волокон к полимеру приводит к за-
метному увеличению модуля упругости (твердости) и уменьшению тан-
генса угла механических потерь, что доказывает армирующий эффект
ВКП в ПМК-матрице. Термогравиметрические диаграммы показывают
большую термическую устойчивость композитов по сравнению с чист-
той ПМК. Кроме того, результаты термомеханического анализа по-
зволяют предположить, что биокомпозиты с небольшими добавками
волокон животного происхождения будут обладать лучшими тепловы-
ми свойствами, чем исходные полимеры. Исследования методом СЭМ
подтверждают, что оба типа волокон хорошо распределялись в ПМК
матрице. Хотя к волокнам растительного и животного происхождения
в качестве сырья биотехнологических производств проявляется повы-
шенный интерес и в течение последних нескольких лет они подробно
изучаются, на многие вопросы, как, например, о межфазных связях и
перераспределении нагрузки в композитах, до сих пор не получен ис-
черпывающий ответ. С целью расширения областей применения этих
волокон при решении проблем охраны окружающей среды в будущем
предстоит провести много исследований.

Литература

1. Williams D.F. Definitions in biomaterials. *Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials*, Chester, Eng-
land, 1986; 4, Elsevier, New York.
2. Shao Z. and Vollrath F. Surprising strength of silkworm silk. *Nature*.
2002; 418: 741.
3. Zhao H.P., Feng X.Q., Yu S.W., Cui W.Z. and Zou F.Z. Mechanical
properties of silkworm cocoons. *Polymer*. 2005; 46: 9192–9201.
4. Atkins E. Silk's secrets. *Nature*. 2003; 424: 1010.
5. Perez-Rigueiro J., Viney C., Llorca J. and Elices M. Silkworm silk as
an engineering material. *Journal of Applied Polymer Science*. 1998;
70: 2439–2447.
6. Jiang P., Liu H., Wang C., Wu L., Huang J. and Guo C. Tensile beha-
vior and morphology of differently degummed silkworm (*Bombyx
mori*) cocoon silk fibers. *Materials Letters*. 2006; 60: 919–925.
7. Altman G.H., Diaz F., Jakuba C., Calabro T., Horan R.L., Chen J.,
Lu H., Richmond J. and Kaplan D.L. Silk-based biomaterials. *Biomate-
rials*. 2003; 24: 401–416.

8. Kawahara Y. and Shioya M. Characterization of microvoids in Mulberry and Tussah silk fibers using stannic acid treatment. *Journal of Applied Polymer Science*. 1999; 73: 363–367.
9. Postlethwait R.W. Tissue reaction to surgical sutures. In: Dumphy J.E., Van Winkle W., eds. *Repair and Regeneration*. New York: McGraw-Hill, 1969. pp. 263–285.
10. Freed L.E., Grande D.A., Emmanuel J., Marquis J.C., Lingbin Z. and Langer R. Joint resurfacing using allograft chondrocytes and synthetic biodegradable polymer scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1994; 28: 891–899.
11. Meinel L., Hofmann S., Karageorgiou V., Zichner L., Langer R., Kaplan D. and Vunjak-Novakovic G. Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds. *Biotechnology and Bioengineering*. 2004; 88: 379–391.
12. www.cs.cmu.edu/people/tissue/tutorial.html.
13. www.eng.uab.edu/polymers.
14. Altman G.H., Horan R.L., Lu H., Moreau J., Martin I., Richmond J.C. and Kaplan D.L. Silk matrix for tissue engineered anterior cruciate ligaments. *Biomaterials*. 2002; 23: 4131–4141.
15. Annamaria S., Maria R., Tullia M., Silvio S. and Orio C. The microbial degradation of silk: A laboratory investigation. *International Biodegradation and Biodegradation* 1998; 42: 203–211.
16. Nomura M., Iwasa Y. and Araya H. Moisture absorbing and desorbing polyurethane foam and its production. Japan Patent 07-292240A, 1995.
17. Hatakeyama H. Biodegradable sericin-containing polyurethane and its production. Japan Patent 08-012738A, 1996.
18. Ishikawa H., Nagura M. and Tsuchiya Y. Fine structure and physical properties of blend film compose of silk sericin and poly(vinyl alcohol). *Sen'I Gakkaishi*. 1987; 43: 283–287.
19. Nakamura K. and Koga Y. Sericin-containing polymeric hydrous gel and method for producing the same. Japan Patent 2001-106794A, 2001.
20. Park S.J., Lee K.Y., Ha W.S. and Park S.Y. Structural changes and their effect on mechanical properties of silk fibroin/chitosan blends. *Journal of Applied Polymer Science*. 1999; 74: 2571–2575.
21. Kweon H., Ha H.C., Um I.C. and Park Y.H. Physical properties of silk fibroin/chitosan blend films. *Journal of Applied Polymer Science*. 2001; 80: 928–934.
22. Katori S. and Kimura T. Injection moulding of silk fiber reinforced biodegradable composites. In Brebbia C.A. and de Wilde W.P. (ed), *High Performance Structures and Composites*. WIT Press, Boston, 2002. Section 2: pp. 97–105.

23. Lee S.M., Cho D., Park W.H., Lee S.G., Han S.O. and Drzal L.T. Novel silk/poly (butylenes succinate) biocomposites: The effect of short fiber content on their mechanical and thermal properties. *Composites Science and Technology*. 2005; 65: 647–657.
24. Cheung H.Y., Lau K.T. and Tao X.M. A potential material for tissue engineering: Silkworm silk/PLA biocomposite. *Comp. Pt. B: Engineering*. 2008; 36(6): 1026–1033.
25. Annual Report. Environment Hong Kong 2005. Environmental Protection Department, the Government of the Hong Kong Special Administrative Region. 2005.
26. Fraser, R.D.B. and Parry, D.A.D. The molecular structure of reptilian keratin. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1996; 19: 207–211.
27. www.ornithology.com/lectures/Feathers.html.
28. Cheng S., Lau K.T., Liu T., Zhao Y.Q., Lam P.M., Ho M.P. and Yin Y.S. Preparation and mechanical properties of poly(lactic acid) composites containing chicken feather fibers. *Composites Part B*. 2008, in press.
29. Ramakrishna, S., Mayer, J., and Leong, K.W. Biomedical applications of polymer-composite materials: A review. *Composite Science and Technology*. 2001; 61(9): 1189–1224.

БИОПОЛИМЕРНЫЕ ВОЛОКНА ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Ягита Кришнамачари

Университет штата Айова, США

7.1. Наука о наноматериалах и тканевая инженерия

Тканевая инженерия — это область исследований, целью которой является замена или восстановление анатомической структуры и функций поврежденной или отсутствующей ткани. Один из наиболее широко исследуемых аспектов тканевой инженерии — дизайн полимерного каркаса (матрицы) из элементов, обладающих специальными механическими и биологическими свойствами, аналогичными свойствам внеклеточного матрикса (ВКМ). Взаимодействия между клетками и ВКМ контролируют функциональную активность клеток: миграцию, пролиферацию (разрастание), дифференцировку (возникновение различий между изначально однородными клетками с образованием специализированных клеток), экспрессию гена (проявление данного гена в организме в форме какого-либо специфического для него признака) и органогенез (формирование органов в период роста) [1].

Разработка каркаса ткани имеет цель химически, структурно и функционально воссоздать микроокружающую среду, которая должна стать очень похожей на естественную среду в живом организме (*in vivo*). Каркас разрабатываемой ткани является трехмерной структурой, к которой клетки могут прикрепляться, пролиферировать и дифференцировать [1]. Наряду с выполнением желаемых функций эти матрицы должны быть биосовместимыми и не проявлять нежелательного иммунного ответа, который приведет к отторжению имплантата. Кроме того, они должны быть пористыми, чтобы максимально увеличить присоединение клеток, пролиферацию и ангиогенез (процесс образования новых кровеносных сосудов). Уже получен ряд матриц, подходящих для эффективной регенерации ткани, но все равно существуют специфические ограничения по материалам каркаса [2].

Успех применения матриц в тканевой инженерии определяется свойствами материала, созданного решением задач оптимизации механических, химических и геометрических свойств для эффективного функционирования на макроскопическом и микроскопическом уровнях [3]. Матрица должна обеспечивать механическую стабильность ткани в процессе ее формирования. На микроскопическом уровне рост и дифференцировка клеток зависят от того, насколько матрица соответствует

природной ткани и насколько она сможет обеспечить передачу необходимых сигналов к клеткам [3]. Матрицы, полученные традиционными методами из природных биополимеров, не всегда дают хороший результат в условиях *in vivo* из-за недостаточного контроля геометрии каркаса (неудовлетворительные эластичность и упругость, плохое распределение пор по размерам и по расположению, дефицит внутренней волокнистой сетки) [3]. Наряду с этими недостатками, связанными с технологией производства, существуют ограничения, обусловленные свойствами, присущими самим природным материалам, такими как низкая прочность при растяжении и высокая вероятность проявления иммунного ответа, в результате чего может возникнуть отторжение матрицы [4]. Для преодоления этих ограничений можно использовать нанотехнологии, которые изменяют поверхностную энергию материала, связанную с шероховатостью поверхности, смачиваемостью и механической прочностью [5]. Натуральные и синтетические материалы, разрабатываемые на наноуровне, способствуют росту клеток и их дифференцировке [6].

В этой главе будут рассмотрены природные и синтетические материалы, используемые для получения наноструктурированных каркасов с целью их применения в инженерии тканей (рис. 7.1). Мы также обсудим, каким образом композиты из этих материалов могут обеспечить оптимальную среду для регенерации тканей. К разработке наноструктурированных материалов для матриц проявляют интерес такие крупные корпорации, как Boston Scientific и Medtronic Inc. (Миннеаполис, Миннесота). Так как живые организмы построены из клеток, размер которых обычно составляет 10–50 мкм, а размеры компонентов клеток и белков меньше, чем 5 нм, изучение биологических процессов и клеточной деятельности должно проводиться на наноуровне.

7.1.1. Наноматериалы биомедицинского назначения

Создание нановолокнистых матриц предоставляет возможность эффективной замены природной ткани [7]. Биоматериалы, сформованные в виде нановолокон, могут положительно влиять на физическое и механическое поведение матриц из биоматериала и уже использовались для изготовления хряща [8], кости [9], кровеносных сосудов [11] и в средствах при заживлении мелких ран [10]. Преимущества использования нановолокнистых биоматериалов для тканевой инженерии заключаются в визуальной имитации натуральной ткани, легкости функционализации поверхности и улучшении механических свойств матрицы [7]. К тому же нановолокна не препятствуют диффузии растворимых веществ и клеток.

Разработки наноструктурированных материалов ведутся параллельно с развитием технологий геной инженерии [12]. Например, матрицы, удерживающие плазмидную ДНК, были изготовлены с использованием сополимера молочной и гликолевой кислот (сМГК) и системы полимер молочной кислоты/полиэтиленгликоль (ПМК/ПЭГ). ДНК, просачиваясь через нановолокнистую полимерную матрицу, сохра-

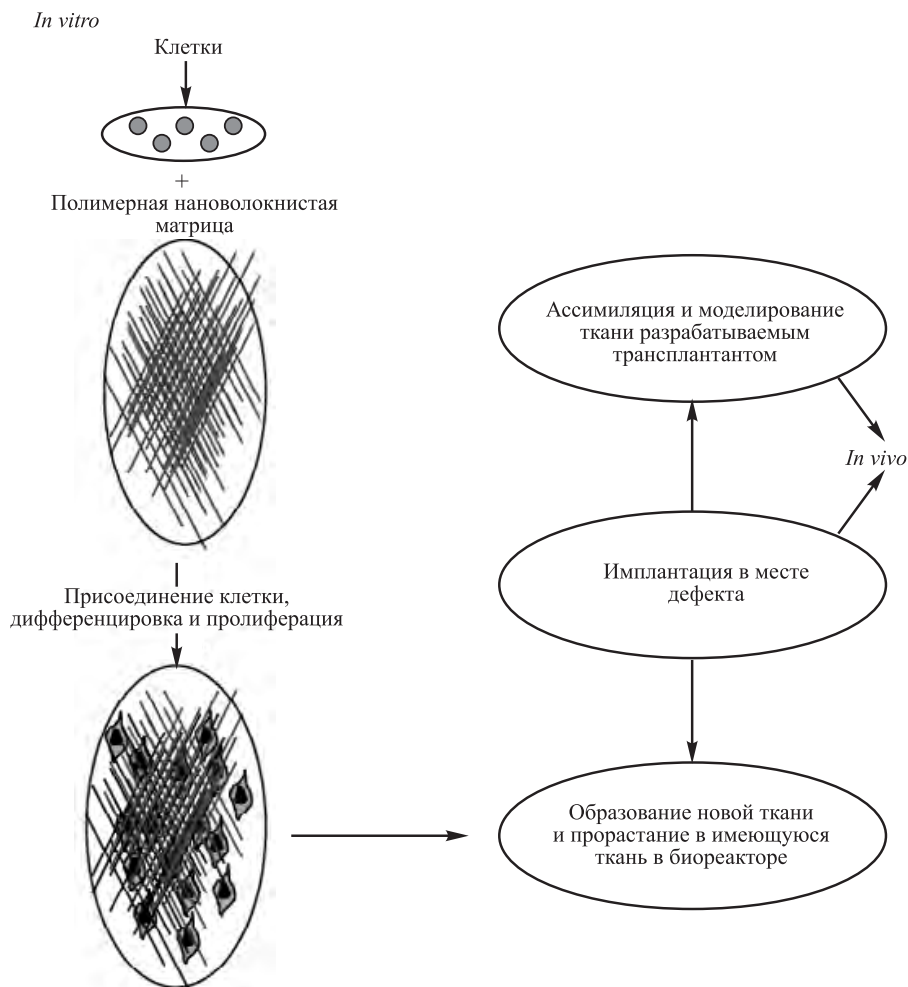


Рис. 7.1. Процесс разработки ткани с использованием наноструктурированного полимерного материала-матрицы

няет свою активность в сочетании с сильной экспрессией модельного протеина β -галактозидазы. Наноструктурированные материалы, разрабатываемые для заживления ран, могут стимулировать активность гемостаза (свертывание крови), благодаря которому кровотечение раны останавливается физиологическим процессом коагуляции. Гемостазу способствует большая площадь поверхности, которая характерна для наноструктурированных материалов [7]. К тому же из-за большого отношения площади к объему наноструктурированные биоматериалы в 10–50 раз эффективнее обычных полимерных пленок (способность к абсорбции жидкости, выделяющейся из раны, — основной критерий разработки средств для заживления ран). Полимеры, изготовленные при помощи нанотехнологий, также обладают способностью легко при-

нимать контуры раны и ретенционной зоны, что является критическим параметром, влияющим на успешное применение биоматериала в качестве заживляющих повязок и заполнителей дефектов [7].

7.1.2. Реакция клеток на наноматериалы, используемые в тканевой инженерии

Отличительной чертой природной ткани является неизменное присутствие наноразмерных компонентов, таких как коллаген. Для полной имитации синтетические матрицы должны быть сформированы с использованием наноэлементов, в таком случае можно ожидать лучший эффект, кроме того поведение клеток можно контролировать. Например, имплантацией сферического наноразмерного глинозема, который похож по структуре на природные кристаллы гидроксиапатитов, найденные в костях человека, может быть увеличена активность остеобластов (одноядерных клеток, ответственных за формирование кости) и остеокластов (многоядерных клеток кости, ответственных за резорбцию костной ткани за счет удаления из нее минеральных веществ) [13]. Углеродные нанотрубки также способствуют пролиферации остеобластов [14]. Нановолокна имеют большее аспектное отношение, что сказывается на улучшенной адгезии клеток и их пролиферации. Благодаря большой площади поверхности наноразмерных материалов на них адсорбируется существенно больше протеинов, таких как фибронектин, коллаген и ламинин. Естественно, эти протеины, регулирующие определенные клеточные функции, демонстрируют повышенную активность на нанофазных материалах [14, 15]. Нановолокна имеют диаметр от 50 до 500 нм, что на несколько порядков меньше, чем размеры клеток, таким образом, они проявляют сходство с наноструктурированным природным ВКМ. Одна из причин высокой эффективности нановолокнистых каркасных материалов по сравнению с традиционными микрометровыми частицами — это присутствие непрерывных структур [14]. Клетки преимущественно прикрепляются и распространяются на нановолокнистых матрицах, обнаружено, что они «сшивают» нановолокна в матрице с образованием высокоорганизованной трехмерной клеточной сетки. При помощи нанотехнологий, основанных на процессах самоорганизации и фазового разделения, методик электропрядения и других подходов можно получать полимерные волокна диаметром от 3 нм до 5 мкм.

Технология переработки природных и синтетических композитов, которая становится все более популярной для целей тканевой инженерии, — это электропрядение [16–18]. Ее основное преимущество — экономичность, она может использоваться для разработки матриц из длинных непрерывных волокнистых сеток [4].

7.1.3. Электропрядение. Теория и процесс

Технология электропрядения, разработанная Ренекором и Чуном, используется при переработке многих природных и искусственных

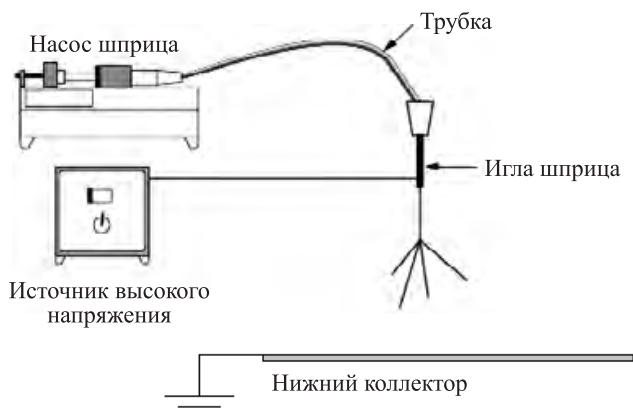


Рис. 7.2. Процесс получения нановолокнистого материала методом электропрядения [22]. Взято с разрешения John Wiley and Sons Inc.

полимеров в нановолокна для целей тканевой инженерии [16, 19]. Такие волокна исследовались в качестве матриц для разработки тканей, так как они на наноуровне имитируют свойства природного ВКМ. Наиболее привлекательными чертами электропрядения являются высокая рентабельность и простота [4].

Типичная установка электропрядения состоит из насоса шприца, источника высокого напряжения и коллектора (рис. 7.2). Электрическое поле с источником высокого напряжения индуцирует в растворе полимера одноименные электрические заряды, которые приводят к возникновению сил отталкивания, преодолевающих силы поверхностного натяжения, инициируя вылет нановолокон в виде тонкой

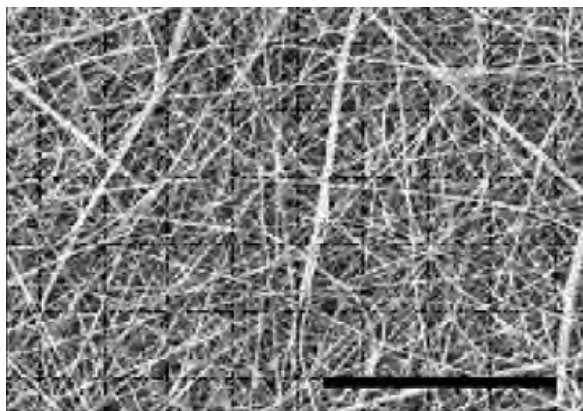


Рис. 7.3. СЭМ-изображение нановолокон из полимера, полученного электропрядением. Масштабная полоска соответствует 100 мкм [21]

струи раствора полимера. После испарения растворителя полимерные нановолокна поступают на укладку в соответствующий коллектор [20–22].

На рисунке 7.3 представлены электронные микрофотографии нановолокнистого поликапролактона (ПКЛ), сделанные при помощи сканирующего электронного микроскопа. Для получения продукта, удовлетворяющего специфическим требованиям тканевой инженерии (пористость, геометрия и диаметр волокна), можно изменять параметры сырья и технологии процесса электропрядения: вязкость и концентрацию полимерного раствора, проводимость, диэлектрическую постоянную и дипольный момент, силу и напряженность электрического поля, скорость потока, конструкцию коллектора и т. п. [23, 24]. Размер пор, их ориентация и диаметр волокон сильно влияют на процесс регенерации кожи, и эти свойства могут эффективно контролироваться технологиями электропрядения [21]. Клетки, высеянные на матрице, должны расти и распространяться внутрь нановолокнистой матрицы, а нановолокна, организуя гибкую и динамичную структуру, позволят клеткам производить амебоидные движения, способствуя их миграции [10].

7.2. Биоразлагаемые и биорезорбируемые полимеры

Как было определено Вертом [25], биоразлагаемые полимеры претерпевают деструкцию из-за разрушения макромолекул в естественных условиях. Биорезорбируемые (биорассасываемые) полимеры, такие как полимолочная кислота (ПМК) и полигликолевая кислота (ПГК), демонстрируют разрушение в объеме и исчезают естественным путем или путем простой фильтрации продуктов их разрушения в естественных условиях [26, 27]. Биоразлагаемые полимеры могут быть природными или синтетическими. К природным полимерам относятся коллаген [28], хитозан [29, 30], фибриноген [31] и шелк [32]. Природные полимеры характеризуются хорошим клеточным взаимодействием с окружающей тканью и повышенной биосовместимостью. Синтетические полимеры, такие как ПМК, получают методом контролируемой полимеризации, при этом продукт обладает комплексом требуемых физико-химических свойств [4]. Гидрогели формируют третий тип биополимеров [33, 34]. Вводимые в организм гидрогели могут принимать такую же форму, как и имплантат, при этом нет необходимости изготавливать матрицу в соответствии с размером и геометрией заменяемого участка организма [33, 34].

В последующих подразделах будут рассмотрены несколько видов синтетических и натуральных полимеров, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. Композитная матрица может быть получена и на основе смешения двух и более природных или синтетических биополимеров, чтобы объединить достоинства индивидуальных компонентов. Этот класс композиционных полимеров будет обсуждаться в разделе 7.3.

7.2.1. Природные биополимеры

7.2.1.1. Коллаген

Коллаген, волокнистый протеин, — основной компонент соединительной ткани, он также является классическим примером природного биополимера [35]. Коллаген имеет высокоорганизованную структуру, что обуславливает его способность регулировать рост и дифференциацию клеток на разных стадиях развития ткани [10].

Идентифицировано более 25 различных видов коллагена. Типы I и III являются наиболее распространенными формами коллагена в природной ткани. Молекула коллагена образована тройной спиралью, состоящей из α -полипептидных цепей, каждая из которых закручена в левостороннюю спираль [4, 36]. Очищенный коллаген после экстракции из природных источников называется воссозданным (reconstituted) коллагеном [4], он вызывает совсем малый иммунный ответ [4]. Характерной частью фибрилл коллагена является повторяющаяся структурная единица в виде полосы длиной 67 нм [36]. Фибриллы коллагена типа I и III — наиболее распространенного протеина ряда организмов млекопитающих — находятся в межклеточном пространстве и обеспечивают клетки соответствующими сигналами для их эмбрионального развития, органогенеза и роста, а также заживления раны [37].

Типичные биохимические процессы, применяемые для отделения и очистки коллагена, позволяют добиться компромисса в сохранении биологических и структурных свойств. Показано [4], что матрица из коллагеновых нановолокон, полученных методом электропрядения, может обладать приемлемыми биологическими и структурными свойствами. Структура нановолокон коллагена может имитировать структуру ВКМ (рис. 7.4). Фибриллярная структура коллагена важна для присоединения клеток и их пролиферации и является определяющим критерием при разработке тканей, которые должны быть очень похо-

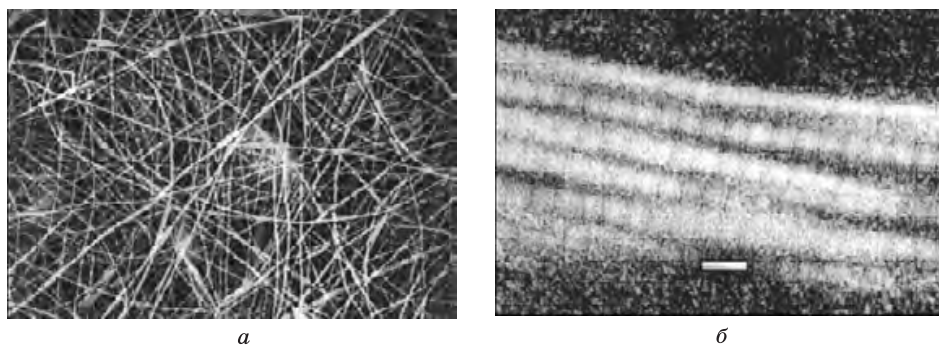


Рис. 7.4. СЭМ-изображения фибрилл коллагена, полученных методом электропрядения, с диаметром меньше 100 нм (*а*) и волокон природного коллагена, отличительным признаком которых является повторяющаяся единица длиной 67 нм (*б*). Масштабная полоска на *б* соответствует 100 нм. Взято из [36] с разрешения Американского химического общества

жими на природную ткань — как структурно, так и функционально [38]. К тому же предполагается, что высокое отношение поверхности к объему (аспектное отношение) этих коллагеновых нановолокон должно способствовать более сильной адгезии клеток по сравнению с традиционными матрицами [36]. Имплантаты на основе коллагена разрушаются по механизму коллагенеза млекопитающих. Существуют природные ферменты, которые атакуют тройную спиральную структуру коллагена в определенных специфических местах [39].

Применение нановолокон коллагена в тканевой инженерии

Нановолокна коллагена могут быть получены с использованием технологии электропрядения из раствора коллагена в 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропанол (ГФП) [36]. Артериальные гладкомышечные клетки, помещенные в биореактор, могут плотно заселять матрицу (рис. 7.5) [36]. Кросс-секционный анализ показал, что нановолокнистый коллаген способствует глубокому проникновению клеток в коллагеновую матрицу [36]. Волокнистая коллагеновая матрица, полученная методом электропрядения, превосходит по совместимости с клетками и инициированию роста клеток коллагеновую матрицу, приготовленную другими способами.

Разработка заменителей кожи при использовании одного лишь коллагена приводит к неудовлетворительному результату из-за низкой механической прочности биоматериала. Композиты, основанные на комбинации коллагена с синтетическим полимером (см. разд. 7.3) [10], позволяют достигать более высоких значений прочности при разрыве.

В поиске новых материалов для тканевой инженерии также исследовался желатин — производное коллагена [22, 40]. Желатин получают экстракцией из коллагена в ходе протекания процессов кислотно-щелочного взаимодействия и термической денатурации [21]. Желатин,



Рис. 7.5. СЭМ-изображение матрицы из нановолокнистого коллагена, в которую проникли гладкомышечные клетки через 7 дней. Взято из [36] с разрешения Американского химического общества

как и коллаген, неиммуногенное соединение, однако из-за потери механических свойств в водной среде нановолокна желатина находят ограниченное применение [4].

7.2.1.2. Хитозан

Хитозан — деацетилированное производное хитина, высокомолекулярного природного биополимера, который в изобилии содержится в панцирях морских ракообразных [41]. Хитозан и коллаген — два наиболее исследованных природных полимера, используемые в тканевой инженерии [42]. Однако ограниченная доступность коллагена лимитирует его широкое применение на коммерческом уровне [42–44]. Хитозан — это линейный полимер природного происхождения, состоящий из аминоглюкозы и N-ацетилглюкозаминовых звеньев, связанных в β -(1–4)-положении (рис. 7.6) [45]. Соотношение аминоглюкозы (NH_2) и ацетиламиноглюкозы (CONH_2) определяет степень деацетилирования полимера. Чем больше этот показатель, тем большее количество первичных аминов содержится в структуре. Молекулярная масса хитозана составляет от 300 до 1000 кД и выше, полимер легко растворяется в слабых кислотах (с $\text{pH} < 6$) [42]. Катионная природа хитозана обуславливает его электростатическое взаимодействие с анионными глюкозамингликанами (ГАГ), протеогликанами и другими отрицательно заряженными молекулами [43]. Хитозан изначально нашел широкое применение для разработки суставной ткани из-за структурного сходства с ГАГ, найденной в суставном хряще [43]. Эта структурная аналогия обеспечивает хитозану ключевую роль в модуляции морфологии, дифференциации и функций хондроцитов. Кроме того, из-за того что большое количество цитокинов и факторов роста связаны с взаимодействием клеток и ГАГ, комплекс хитозан/ГАГ может благоприятствовать увеличению количества факторов роста в матрице, в котором находятся колонизирующие клетки [43, 44, 46].

Разрушение хитозана обратно пропорционально степени диацетилирования, в то время как адгезия клеток линейно коррелирует со степенью диацетилирования [43].

Внутри организма хитозан разлагается по механизму ферментативного гидролиза. Фермент лизозим атакует ацетилированные области [43]. Протеолитические ферменты также демонстрируют некоторую ферментативную активность по отношению к хитозану [43]. Продукты разложения представляют собой олигосахариды различной длины. Глубоко деацетилированные продукты сохраняются в течение нескольких месяцев после имплантации и способствуют максимальной адгезии и пролиферации клеток [47–50]. Некоторые исследования доказали успешность имитации трехмерного каркаса из хитозана природной ткани человека — матрица обладала нужной пористостью и механическими свойствами [47, 50].

Растворы хитозана имеют высокую вязкость, поэтому они не могут быть непосредственно переработаны методом электропрядения в полимерные нановолокна, что ограничивает использование хитозана в каче-

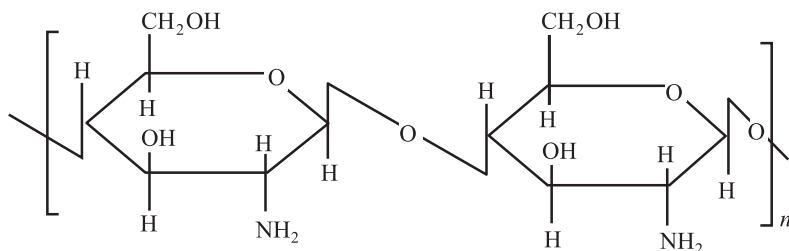


Рис. 7.6. Структура хитозана. Взято из [45] с разрешения Elsevier Inc.

стве материала матрицы. Вязкость полимерных растворов — важный параметр, определяющий возможность образовывать нановолокна и их пористость [36, 51, 52]. Высокая вязкость растворов хитозана обусловлена наличием водородных связей между амино- и гидроксильными группами полимерных цепей хитозана [51], которые затрудняют быструю перестройку полимерных цепей, требуемую для формирования нановолокнистой матрицы. Для применения нановолокон хитозана в тканевой инженерии необходимо ввести в хитозан компонент, который будет разрушать межмолекулярное взаимодействие между цепями полимера. Один из подходов — формирование композитов хитозана с биосовместимым синтетическим полимером полиэтиленоксидом (ПЭО) — будет рассмотрен в разделе 7.3 [51].

7.2.1.3. Протеин шелка

Шелк — это полимерный протеин, волокно, которое вырабатывают гусеницы тутового шелкопряда *Lepidoptera*, когда формируют свой кокон [53]. Хотя шелк использовался в текстильной промышленности многие десятилетия, в последнее время он привлекает большое внимание как элемент для армирования биоматериалов в тканевой инженерии благодаря его уникальным механическим свойствам, биосовместимости и биоразлагаемости [54, 55].

Шелк тутового шелкопряда — наиболее распространенный материал для целей тканевой инженерии. Волокно шелка имеет диаметр около 10–20 мкм и состоит из оболочки, покрывающей протеин, — серицина, который удерживает несколько волокон вместе наподобие клея [32]. Ядро состоит из тяжелой цепи, легких цепей и гликопротеина. Тяжелая цепь и легкие цепи связаны между собой дисульфидными мостиками [32]. Тяжелая цепь, также называемая фиброином шелка, является основным компонентом, определяющим свойства шелка для использования в тканевой инженерии [56]. Высокие механические свойства шелка обусловлены развитой системой водородных связей, гидрофобной природой протеина и кристалличностью белковых фрагментов структуры [56]. Его прочность при растяжении составляет 610–690 МПа, что в 10 раз больше, чем у большинства других природных биополимеров [53]. Человеческие кости и сухожилия характеризу-

ются прочностью при растяжении от 160 до 200 МПа, поэтому шелк в этом смысле — идеальный материал [54, 57].

Как оказалось, серициновый компонент шелка вызывает иммунную реакцию [58], что ограничивает применение необработанного шелка в тканевой инженерии. Однако с развитием науки о наноматериалах и более совершенных технологий переработки серицин может быть легко удален. Такой измененный шелк в экспериментах с макрофагами *in vitro* оказался биосовместимым и неиммуногенным [59]. Было показано, что в условиях *in vivo* волокна шелка сохраняют свою прочность при растяжении до года, при этом разрушение в основном происходит по механизму разрыва связей в результате воздействия протеолитических ферментов [54]. Прочность и стойкость к удару этих природных биополимеров делают их идеальными материалами для целей тканевой инженерии.

Применение нановолокон шелка в тканевой инженерии

Волокна шелка, полученные электропрядением, примерно в 40 раз тоньше волокон природного фиброина шелка, поэтому они являются перспективными материалами для получения матрицы с такими же характерными размерами, как и у природного ВКМ [32, 58, 60]. В работе [32] была исследована возможность получения наноразмерных матриц из фиброина шелка. Нановолокнистый полимерный материал из шелка, полученный электропрядением (рис. 7.7), был засеян стромальными клетками костного мозга (1 мл, $2 \cdot 10^6$ клеток). После посева шелковые матрицы культивировали в соответствующую среду и наблюдали за ними в течение 14 дней. Как видно из рисунка 7.8, *а*, стромальные клетки костного мозга, высеянные на наноразмерной полимерной матрице, полностью, конфлюэнтно, покрыли матрицу и пролиферировали в течении 14 дней культивирования, в то время как клетки, которые росли на обычной полимерной матрице, не показали пролиферации (рис. 7.8, *б*). Следовательно, эти шелковые нановолокна способны поддерживать прикрепление и рост человеческих клеток костного мозга

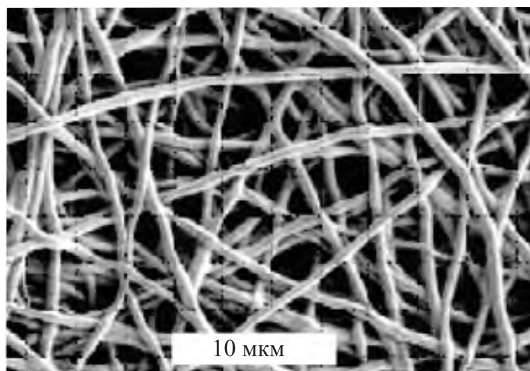


Рис. 7.7. СЭМ-изображения нановолокон шелка, используемых для разработки тканей связок и костей. Взято из [32] с разрешения Elsevier Inc.

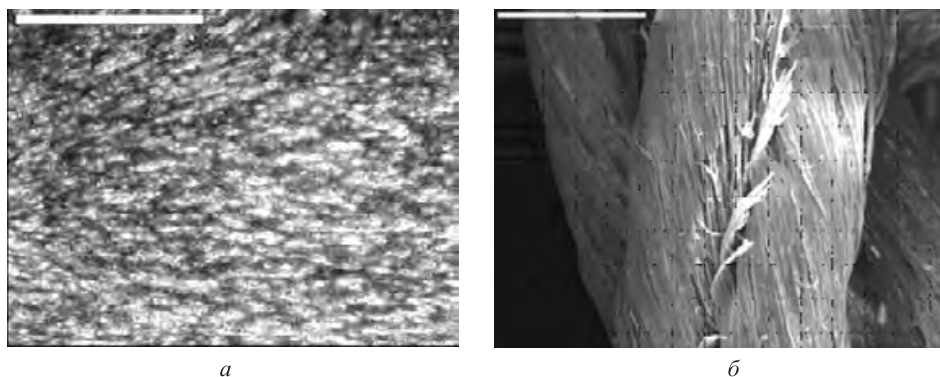


Рис. 7.8. СЭМ-изображения стромальных клеток костного мозга, достигших конfluэнтности на матрице из волокон фиброина шелка, полученных электропрядением, в конце 14-го дня (*а*), и природного фиброина шелка диаметром 14 мкм, поддерживающего рост лишь небольшого количества клеток (*б*). Масштабные полоски соответствуют 500 мкм. Взято из [32] с разрешения Elsevier Inc.

для потенциального использования в регенеративной терапии стволовыми клетками [32].

Другими природными молекулами, из которых были успешно изготовлены наноматериалы для применения в тканевой инженерии, являются ДНК и фибриноген [61–63].

7.2.2. Синтетические биополимеры

Начиная с 1960-х годов, основная роль в тканевой инженерии отводится синтетическим биополимерам. Их преимущества над природными полимерами заключались в возможности модификации для обеспечения нужных свойств, пониженной иммуногенности, простоте переработки и стерилизации [4]. Наиболее распространенные полимеры этой группы — полимолочная кислота (ПМК), полигликолевая кислота (ПГА) и сополимер молочной и гликолевой кислот (сМГК) — одобрены в США Управлением по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов для применения в тканевой инженерии. Эти полимеры разлагаются по простому механизму гидролиза, и в отсутствие воспламенения скорость их разложения практически не меняется [4].

7.2.2.1. Полимолочная и полигликолевые кислоты

ПМК — сложный α -полиэфир, существующий в виде двух энантиомеров (*L*- и *D*-лактидные формы). Это частично кристаллизующееся вещество с температурой стеклования 60–65 °C [4]. ПМК имеет высокую прочность при растяжении (от 50 до 60 МПа), которая значительно превосходит прочность биополимеров [64], что делает полезной ПМК для нужд тканевой инженерии [65, 66]. ПМК относительно гидрофобна благодаря ограниченной способности абсорбировать воду [35, 65, 66].

ПГК представляет собой один из простейших примеров линейного сложного алифатического полиэфира, получается полимеризацией с раскрытием цикла гликолида [4]. Так как ПГК более гидрофильна, чем ПМК, период ее разложения намного короче [4, 24, 67, 68].

Обычно полимеры на основе α -гидроксикислоты подвергаются деструкции в массе. После длительного контакта с водной средой молекулярная масса этих полимеров начинает снижаться, что вызвано реакцией гидролиза без участия ферментов [69–71]. Однако потеря массы не инициируется до того момента, пока цепи полимера не уменьшаются до такого размера, который позволяет им диффундировать из полимерной матрицы [27]. Потеря массы происходит во время фазы ускоренного разрушения полимера, когда физическая целостность матрицы нарушена. Деградация может продолжаться в течение от 1 до 18 месяцев, это зависит от химической структуры и состава, молекулярно-массового распределения (коэффициент полидисперсности), наличия скрытых факторов роста, строения нановолокнистой матрицы, режима переработки, морфологии кристаллической и аморфной областей структуры и, в меньшей степени, условий хранения и места имплантата в организме [27, 72]. Высокая механическая целостность, характерная для этих классов полимеров, обуславливает их пригодность в качестве тканей костей и хрящей. Кинетика разрушения и растворения должна регулироваться и контролироваться таким образом, чтобы наноструктурированный каркас сохранял структурную и функциональную целостность по меньшей мере в течение 6 месяцев (4 месяца для культивирования клеток и образования предварительной ткани *in vitro* в биореакторе и по меньшей мере 2 месяца после имплантации *in vivo*) [27, 72].

Механические свойства матрицы должны быть по возможности такими же, как у природной ткани реципиента во время имплантации. Прочность при растяжении и твердость не должны ухудшаться в течение значительного периода времени, пока растущая ткань будет заменять медленно разрушающуюся полимерную матрицу. В работе [73] исследовали кинетику деградации матрицы из сополимера *D,L*-лактида и гликолида при сжимающей нагрузке. Снижение молекулярной массы сопровождается уменьшением площади поверхности матрицы из-за гидролиза. Это продолжается до тех пор, пока структура матрицы не перестает выдерживать механические нагрузки, после чего она разрушается [73]. Данный процесс при изменении его условий и характеристик полимера может быть существенно растянут во времени. Увеличить способность полимера выдерживать механические нагрузки *in vitro* и *in vivo* также может разработка наноструктурированных матриц [5].

Применение наноструктурированной ПМК в тканевой инженерии

Биоразлагаемые полимеры, такие как ПМК и ПМКГК, могут быть легко переведены в наноструктурированную форму разными способами, например фазовым разделением, самоорганизацией, электропрядением [4].

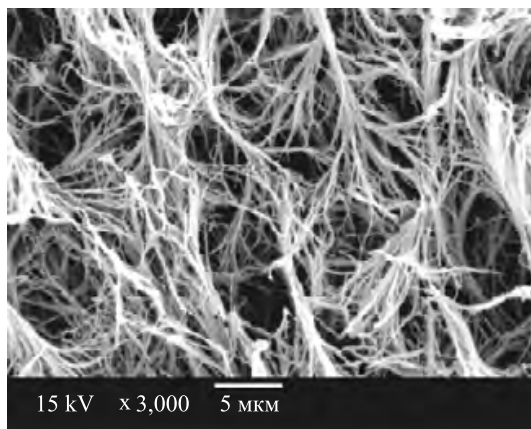


Рис. 7.9. СЭМ-изображение наноструктурированной пористой волокнистой матрицы полимолочной кислоты, полученной электропрядением из 5%-го раствора ПМК в тетрагидрофуране. Взято из [64] с разрешения Elsevier Inc.

В работе [64] исследовали применение матриц из поли-*L*-молочной кислоты для разработки ткани нерва. Технология фазового разделения с тетрагидрофураном в качестве растворителя позволила получить пористую структуру из нановолокон с хорошо контролируемыми и воспроизводимыми свойствами. Матрицы были заселены нейронными стволовыми клетками (C17-2), которые являются предшественниками нейронов. Для поддержки дифференциации и роста невритов *in vivo* и была разработана нановолокнистая матрица, похожая по структуре на природный ВКМ.

Электронные микрофотографии, представленные на рисунке 7.9, демонстрируют высокопористую наноразмерную структуру. После культивирования в нановолокнистую матрицу клетки C17-2 сразу связывались с матрицей, причем с первого же дня был замечен их рост. По поверхности матрицы клетки распределялись беспорядочно. Однако только немногие клетки C17-2 были способны дифференцироваться в нейроны (рис. 7.10, *а*). К концу второго дня прикрепление клеток на матрице значительно усилилось, наблюдался рост невритов (показаны тело нейрона, аксон, дендрит) (рис. 7.10, *б*).

Для улучшения прикрепления клеток можно приготовить нанокомпозит коллагена и ПМК [74]. Коллагеновый компонент композита будет способствовать росту невритов, а ПМК-компонент будет обеспечивать хороший транспорт присоединенных нейронов благодаря более высокой механической целостности и более высокому модулю упругости.

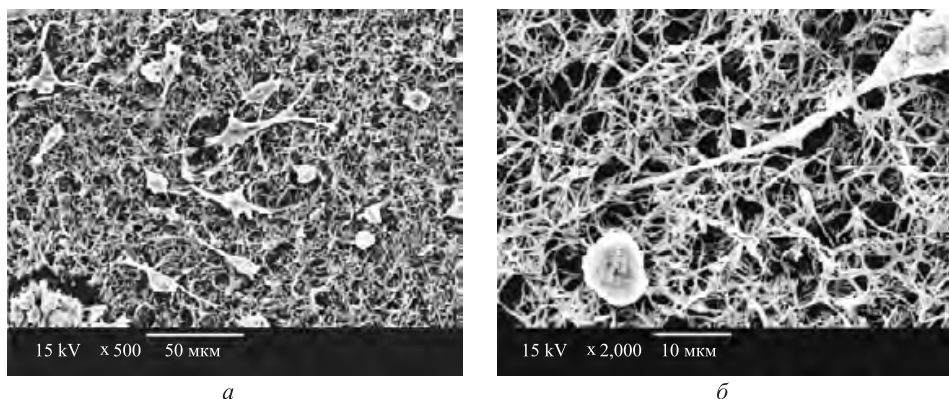


Рис. 7.10. СЭМ-изображение клеток C17-2 на ПМК-матрице из нановолокон (содержание нановолокон – 5% масс./об.), культивированных 1 день (а), и дифференцировка клеток с проникновением невритов в матрицу (б). Взято из [64] с разрешения Elsevier Inc.

7.2.2.2. Синтетические полимеры

Поли(ε-капролактон)

Полимеризация с раскрытием кольца ε-капролактона приводит к получению частично кристаллического полимера с температурой плавления от 58 до 63 °С и очень низкой температурой стеклования –60 °С [27]. Повторяющееся звено гомополимера поли(ε-капролактона), ПКЛ, состоит из неполярных метиленовых групп и одной относительно полярной сложноэфирной группы (рис. 7.11). Полимер деструктурирует по механизму гидролитического расщепления, но гидролиз происходит не сразу [26]. Медленная скорость гидролиза определяет долгое время разрушения, равное примерно 2 годам [26]. Для ускорения процесса разрушения ПКЛ были синтезированы сополимеры ПКЛ с ПМК и ПГК [75]. Более высокая скорость гидролиза ПМК и ПГК, по сравнению с ПКЛ, приводит к образованию молочной и гликолевой кислот в качестве продуктов деструкции, которые, как предполагается, являются катализаторами, в свою очередь способствующими деструкции ПКЛ-фрагментов и, соответственно, ускоряющих деструкцию сополимера [76].

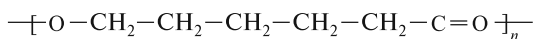


Рис. 7.11. Структура поликапролактона

Полиэтиленоксид

Полиэтиленоксид (ПЭО) часто используется для предотвращения неспецифической адсорбции протеинов и антител [77–79]. Это помогает значительно уменьшить вероятность любой неблагоприятной иммунной реакции. К тому же ПЭО имеет высокий модуль сжатия, что делает его перспективным для использования в биоконструктах [26].

7.2.3. Гидрогели

Гидрогели образуют подкласс природных и синтетических полимеров. Это сшитые гидрофильные полимеры, которые набухают в присутствии воды [33]. Они могут сохранять свою форму даже при высокой степени набухания. Такие гидратированные формы напоминают природный хрящ сустава [26]. Обычно они поставляются в виде инъекций для заполнения дефектов неправильной формы и, таким образом, их можно использовать при минимальном инвазивном хирургическом вмешательстве. Они также могут применяться как носители для биоактивных молекул наряду с клетками [33]. При разработке хрящей роль гидрогеля заключается в захвате клеток и инициаторов роста в полимерную сетку, которая иммобилизует клетки и способствует дифференциации хондроцитов [26]. Введенные инициаторы роста в дальнейшем способствуют развитию ткани хряща, обеспечивая необходимую передачу сигналов [26]. К тому же гидрогели контролируют силы сжатия, действующие на капсулированные клетки, имитируя физиологические условия.

Большинство природных полимеров, включая коллаген, хитозан и фибрин, могут образовывать гидрогели. Однако гидрогели, полученные на основе одних лишь природных полимеров, имеют недостаточную твердость, чтобы функционировать *in vivo*. Среди синтетических гидрогелей интенсивно исследуются полимеры на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ). Так как ПЭГ плохо разрушает, обычно его связывают с ПМК или ПГК [33].

Применение гидрогелей на основе наночастиц в тканевой инженерии

В работе [34] была исследована возможность применения новых наноматериалов, обладающих свойствами твердых пористых матриц и образующих *in situ* гель. После инъекции матрицы на основе пористых наночастиц самоорганизуются. Композит наночастицы ПМК/ПЭГ/биотин был получен методом выпаривания растворителя и самоорганизации, роль мостиковой молекулы при сшивании играл авидин. Авидин — это трехмерный протеин, присутствующий в яичном белке, который может прочно связать четыре молекулы биотина (витамина Н) с высокой специфичностью [34]. Опухолевые человеческие остеобласты смешивали с самоорганизующейся матрицей. Фотографии матрицы, полученные конфокальной микроскопией, показали наличие жизнеспособных единичных клеток, кластеры клеток были равномерно распределены по матрице. Через 10 дней после того, как самоорганизующиеся пористые матрицы были введены в поверхностный слой хорионаллантоисной мембраны 10-дневного эмбриона птенца, наблюдается васкуляризация (рис. 7.12, а), что подтверждает возможность использования матриц на основе гидрогелей для регенерации тканей. Введение материалов, формирующих бесклеточную матрицу, в дефекты костей, взятых от 18-дневных эмбрионов птенцов, привело к быстро распространяющейся васкуляризации (рис. 7.12, б) [34].

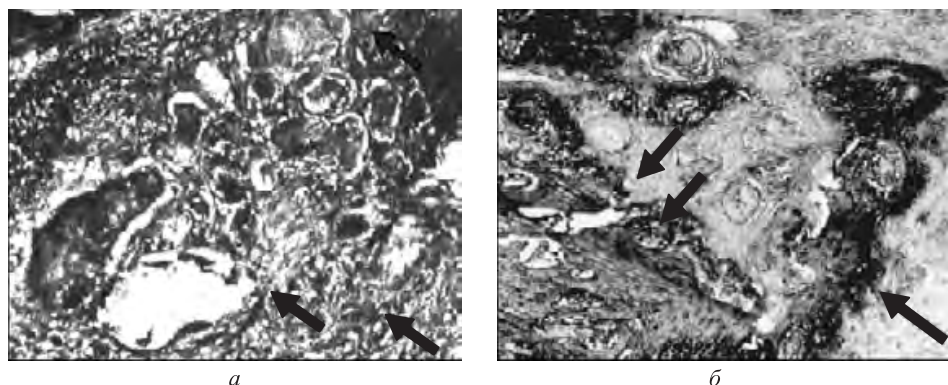


Рис. 7.12. Парафиновые срезы ткани: *а* — пористая матрица на хорионал-лантоисной мембране, продемонстрировано врастание мембраны и синтез матрицы от мембранной ткани; *б* — матрица внутри дефекта бедра, жизнеспособность клеток доказывается щелочным окрашиванием фосфатазы (стрелки указывают на места интеграции матрицы с костью и области образования новой ткани). Взято из [34] с разрешения John Wiley and Sons Inc.

7.3. Композиты нанобиополимеров

Композитные матрицы состоят из двух или более материалов. Совмещая разные материалы в один каркас, можно добиться более выгодных свойств, нежели свойственных каждому компоненту по отдельности [26]. Данные по прочности при растяжении различных природных тканей и природных и синтетических полимеров приведены в таблицах 7.1 и 7.2. Большинство природных полимеров, таких как хитозан и коллаген, даже после сшивания демонстрируют значительно более низкие значения прочности при растяжении и эластичность, нежели представители класса синтетических биополимеров. Объединение синтетических и природных полимеров в один композит позволяет преодолевать данное ограничение по прочности немодифицированных природных или синтетических полимеров [80] и используется довольно часто. Некоторые природные материалы, такие как волокна из протеина шелка, имеют повышенную механическую прочность (от 600 до 650 МПа) [58] по сравнению с большинством биополимеров, например коллагеном и хитозаном, поэтому шелк комбинируют с двумя или большим числом биополимеров.

7.3.1. Применение полимерных нанобиокомпозитов

7.3.1.1. Композиты наногидроксиапатит/коллаген/ПМК для замены костной ткани

Серьезные дефекты кости, как, например, при переломах, трудно поддаются исправлению. Использование аутооттрансплантатов и аллотрансплантатов — один из немногих доступных методов для решения этой

Таблица 7.1

Некоторые механические характеристики тканей человека

Вид ткани	Прочность при растяжении, МПа	Модуль Юнга, ГПа
Оболочка кости	60–160	3–30
Хрящ	3,7–10,5	0,07–0,153
Связки	13–46	0,065–0,541
Сухожилия	24–112	0,14–2,31

Взято из [80] с разрешения Mary Liebert Inc.

Таблица 7.2

Некоторые механические характеристики различных классов полимеров

Вид ткани	Прочность при растяжении, МПа	Модуль Юнга, ГПа
<i>Природные</i>		
Коллаген	0,9–7,4	0,002–0,04
Шелк <i>B. Mori</i> (очищенный)	610–690	15–17
<i>Синтетические</i>		
ПМК	55,2–82	2,8–4,2
ПГК	>68,9	>6,9
ПМГК	41,4–55,2	1,4–2,8

Взято из [80] с разрешения Mary Liebert Inc.

проблемы [81] — затруднено нехваткой доноров, риском передачи заболеваний и реакцией иммунной системы, приводящей к отторжению пересаженной ткани [82].

Наноструктурированные трехмерные материалы представляют интерес для имитации структуры и компонентов кости человека, облегчения роста и формирования кровеносной системы, в результате которых формируется новая кость. Например, композиты на основе гидроксиапатита (ГА) и коллагена, получаемые методом самоорганизации, могут способствовать образованию кости [28, 83]. Однако эти материалы имеют недостаточную механическую прочность, необходимую для применения *in vivo*. Для решения этой проблемы предложен нанокомпозит, сочетающий природные и синтетические биополимеры — ГА, коллаген и ПМК (рис. 7.13) [74]. Минерал кости человека — нестехиометрический по составу карбонатсодержащий апатит с кристаллической структурой, иерархически сложно организованный от наноуровня [74]. Ось кристалла этого минерала ориентирована по оси коллагеновых волокон, размер которых тоже находится в нанометровом диапазоне [74]. Как материал матрицы ГА является osteoconductive, т. е. он не способствует osteoinductivity*, и степень деструкции его относительно невелика [28].

* Способность деминерализованного костного матрикса к ускорению регенерации кости. — Прим. пер.

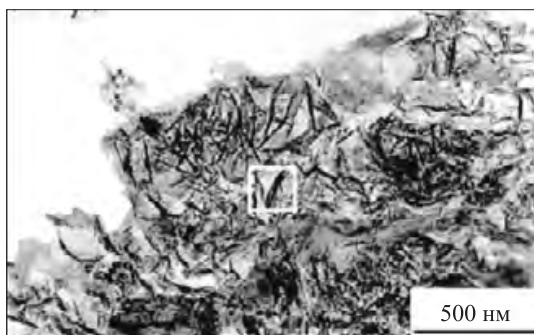


Рис. 7.13. ПЭМ-изображение композита для разработки ткани кости наногидроксиапатит/коллаген/полимолочная кислота, обладающего высокой механической прочностью. Взято из [74] с разрешения John Wiley and Sons Inc.

Для увеличения остеоиндукции ГА часто комбинируют с коллагеном [28, 83]. Композит нано-ГА/коллаген/ПМК имитирует природную кость, имея к тому же собственную высокоорганизованную взаимосвязанную пористую структуру. ПМК придает этому композиту высокую совместимость и прочность. Для получения материала высокой механической прочности ГА и коллаген (в виде минерализованных волокон диаметром около 6 нм для имитации структуры природного протеина кости) распределяли в матрице ПМК. Концентрация ПМК была ограничена 12% от общей массы композита (максимум), при этом сохранялось структурное сходство с природной тканью кости. Далее композитный каркас был имплантирован взрослому кролику мужского пола с сегментальными дефектами кости. Образование новой кости было удостоверено рентгеном по появлению отвердевшей массы и трабекул кости. Нанокompозитная система ГА/коллаген/ПМК привела к формированию новой кости (рис. 7.14, а), заполнению сегментального дефекта (рис. 7.14, б) и образованию новых трабекул (рис. 7.14, в) через 12 недель *in vivo* [74].

7.3.1.2. Нановолокнистые композиты ПКЛ/коллаген для регенерации кожи

Биологическая активность регулируется сигналами ВКМ и окружающих клеток [10]. Молекулы ВКМ окружают клетки, которые обеспечивают механическую поддержку и регулируют активность [10]. Идеальная ранозаживляющая матрица кожи должна имитировать ВКМ так, чтобы дать возможность образоваться новой ткани, одновременно такое покрытие быть достаточно газопроницаемым и при этом оно должно защищать рану от инфекции и дегидратации [84]. Нановолокна, получаемые электропрядением, как было показано выше, эффективно справляются с этими задачами.

Композитная система на основе природного биополимера коллагена и синтетического биорезорбируемого полимера поликапролактона

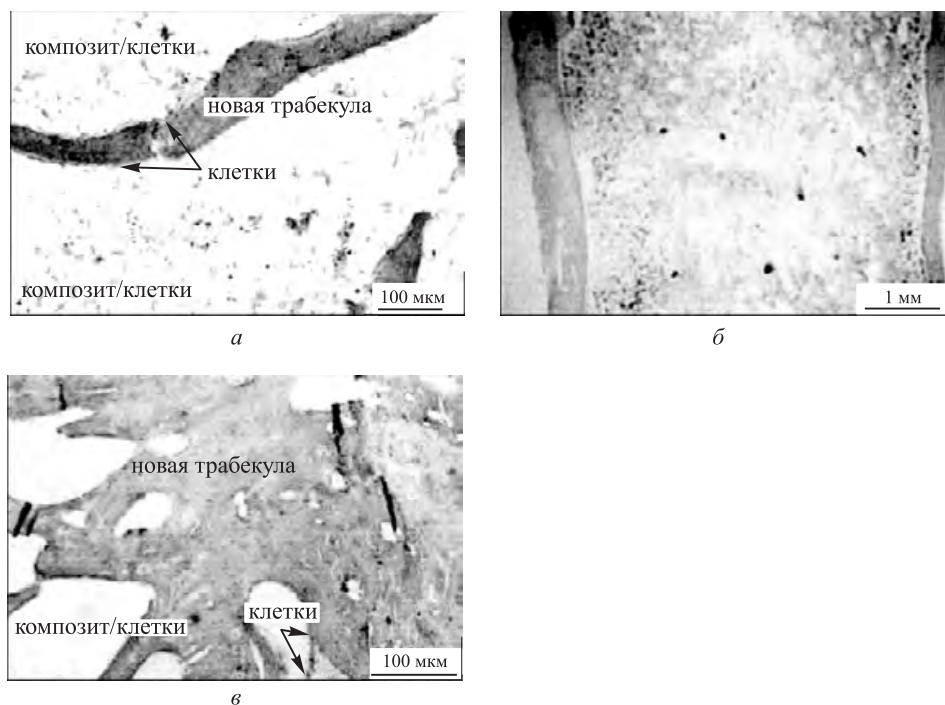


Рис. 7.14. Композитный имплантат на основе композита наногидрокси-апатит/коллаген/полимолочная кислота через 8 недель *in vivo*-эксперимента (а) и после 12 недель активного наполнения большого сегментального дефекта кости (б); полностью восстановленная кортикальная кость, состоящая из костного мозга и новых трабекул в конце 12-й недели (в). Взято из [74] с разрешения John Wiley and Sons Inc.

(ПКЛ) способствует присоединению и разрастанию кожных фибробластов и кератиноцитов [10]. Нановолокна, полученные электропрядением, сразу прикрепляются к влажной поверхности раны без удерживания жидкости, при этом скорость эпителизации возрастает [51, 85]. ПКЛ вводили в состав нанокомпозитной системы для обеспечения биосовместимости с тканью (как мягкой, так и жесткой) и требуемой механической прочности. Такая система может применяться в качестве костного трансплантата [10].

Нановолокнистые композиты ПКЛ/коллаген были получены по технологии электропрядения с размером нановолокон 200–250 нм [10]. Для демонстрации перспективности использования композитных систем в качестве матрицы также проводили два контрольных опыта с матрицами, формируемыми из каждого компонента композита по отдельности. На рисунке 7.15 представлен график скорости роста фибробластов на контрольной и нанокомпозитной матрицах [10].

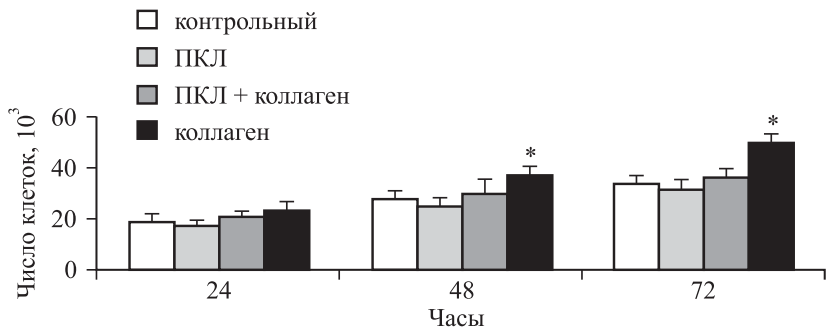


Рис. 7.15. Скорость роста дермобластов человека на контрольных образцах и различных наноматрицах. Взято из [10] с разрешения Mary Liebert Inc.

Нанокompозитная система показала более высокую скорость роста, чем при использовании матрицы из ПКЛ, и немного проиграла в этом матрице из коллагена. Рисунок 7.16, б демонстрирует рост клеток на ПКЛ-матрице, хотя конfluэнтность (сплошность монослоя) и не была достигнута. Для пролиферации и миграции клеток в нановолокнистую матрицу волокнам ПКЛ не хватало коллагена (рис. 7.16, а). Коллаген обеспечивает сильное взаимодействие клеток с матрицей, но без ПКЛ ему не хватает твердости. К тому же высокая пористость, свойственная наноструктурированным композитным матрицам, способствует питательному и метаболическому обмену между матрицей и окружающей ее средой [10].

Композиты ГА/коллаген/ПМК и ПКЛ/коллаген наглядно демонстрируют удачное комбинирование природных и синтетических полимеров. Такие композиты сочетают в себе преимущества природных и синтетических биополимеров, демонстрируя необходимые для ткане-

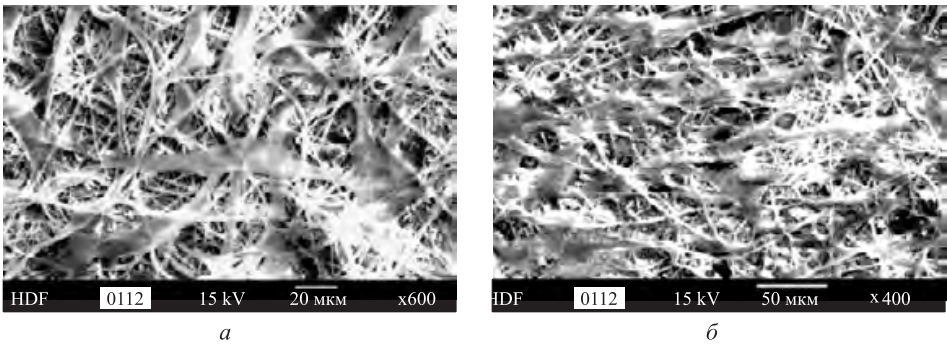


Рис. 7.16. Матрица из поликапролактона не может способствовать росту клеток, который бы привел к образованию сплошного слоя (а) в отличие от нанокompозитной матрицы, состоящей из коллагена и поликапролактона, максимально инициирующей рост и слияние клеток (б). Взято из [10] с разрешения Mary Liebert Inc.

вой инженерии свойства — с точки зрения как механической целостности, так и химии поверхности.

7.3.1.3. Нановолокнистые композиты хитозан/полиэтиленоксид

Наноструктурированную матрицу можно также получать путем комбинирования материалов с целью преодоления технологических трудностей. Примером этого являются нановолокнистые матрицы на основе полиэтиленоксида (ПЭО) и хитозана [51]. Как обсуждалось ранее, хитозан очень затруднительно переработать в нановолокнистую систему из-за сильных межмолекулярных связей в его структуре. При увеличении концентрации полимера проблема высокой вязкости еще более обостряется, что связано с ростом количества непосредственно взаимодействующих цепей молекул хитозана. При некотором критическом пороговом значении вязкости раствор хитозана формирует трехмерный сшитый гель, который не может быть подвергнут электропрядению [36, 47, 52]. Добавление синтетического полимера, такого как ПЭО, снижает вязкость раствора хитозана путем взаимодействия через водородные связи и делает его пригодным к прядению даже при высоких концентрациях [51].

Интенсивно исследуется возможность применения хитозана в различных повязках медицинского назначения и как материала тканевой инженерии [43]. Показано, что он ускоряет формирование кости *in vitro* и *in vivo*. Рисунок 7.17, *а* демонстрирует, что 2% -й раствор хитозана не

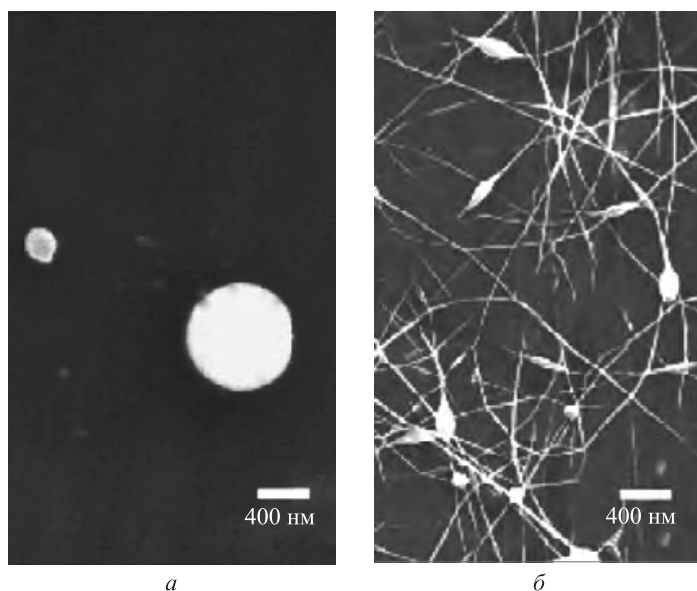


Рис. 7.17. СЭМ-изображения хитозана (*а*) и его композита (добавлено 10% ПЭО) (*б*), полученных электропрядением. Взято из [51] с разрешения Elsevier Inc.

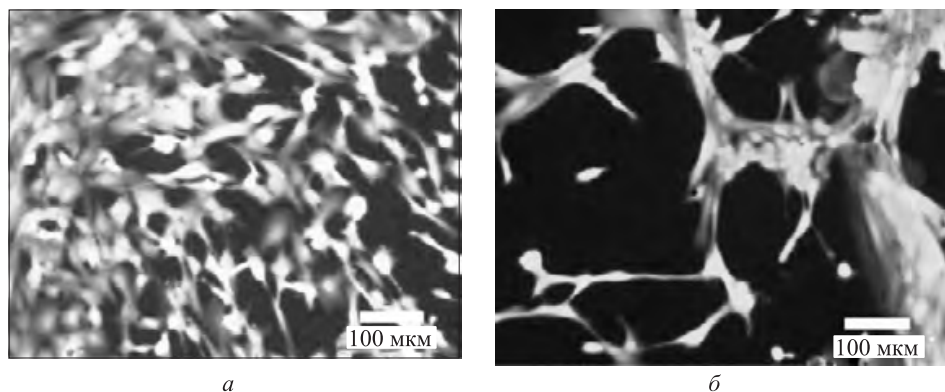


Рис. 7.18. Быстрый рост хондроцитов на нанопористом композите хитозан/полиэтиленоксид (*а*) и незначительная клеточная дифференцировка на традиционной композитной низкопористой пленке, полученной методом полива (*б*). Взято из [51] с разрешения Elsevier Inc.

способен сформировать волокнистую структуру, а повышение концентрации свыше 2% приводит к образованию вязких растворов, не поддающихся прядению. Однако, как видно из рисунка 7.17, *б*, смешением хитозана с ПЭО в соотношении 90 : 10 с использованием в качестве растворителя тритона-Х-100 можно получить нановолокнистый композит [51].

Использование ПЭО без добавок в качестве матриц для нужд тканевой инженерии невозможно, так как к ПЭО у клеток нет адгезии, полимер быстро растворяется в воде и волокнистая структура матрицы разрушается за несколько дней без появления новой ткани [33]. Однако, когда ПЭО смешан с хитозаном и последний является основным компонентом в композитной системе, природный полимер обеспечивает присоединение клеток, дифференцировку и рост и способствует образованию новой ткани. Из рисунка 7.18, *а* видно, что нановолокнистые композитные матрицы хитозан/ПЭО способствуют гораздо большему присоединению хондроцитов по сравнению с полученной методом полива из раствора обычной пленки ПЭО/хитозан (рис. 7.18, *б*), которая не имеет большую площадь поверхности и регулярную пористую трехмерную фибриллярную сетку [51].

7.3.1.4. Нановолокнистые композиты желатин/ПКЛ

Другая интересная идея разработки композитных систем — сочетание в одном композите полимерных компонентов, различающихся по скорости деструкции. Из-за высокой пористости таких матриц ткань может разрастаться внутри пространства микрополостей в каркасе [21, 26].

Применение одной такой системы, в которой были скомбинированы природный полимер желатин и синтетический биоразлагаемый полимер ПКЛ, было исследовано в работе [22]. Желатин характеризуется

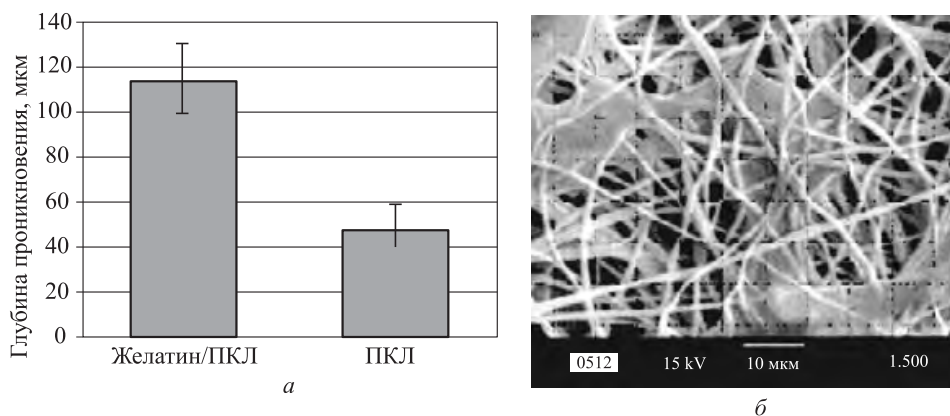


Рис. 7.19. Степень проникновения (глубина, мкм) клеток в нанокompозиты ПКЛ/желатин и в нановолокнистую матрицу из немодифицированного ПКЛ (а), вращение и взаимодействие клеток, демонстрируемое многослойностью клеток на матрице ПКЛ/желатин (б). Взято из [22] с разрешения John Wiley and Sons Inc.

гидрофильностью, хорошим сродством к клеткам и обеспечивает продолжительное высвобождение протеина из матрицы, создавая благоприятные условия для присоединения клеток и их роста. В композите желатин постоянно растворяется, оставляя после себя пространство (микрополости), что усиливает миграцию клеток и способствует их большому проникновению в матрицу (рис. 7.19, а). ПКЛ как компонент матрицы обеспечивает высокие механические свойства композита, позволяя клеткам проникать в более глубокие области матрицы (рис. 7.19, б) [22].

7.4. Заключение

Наука о наноматериалах позволила добиться значительных успехов в области тканевой инженерии. Последние достижения технологий дают возможность имитировать сложную иерархическую структуру природной ткани. Недавние исследования доказали, что нанопазный материал может значительно увеличить присоединение клеток, их активность, ответную реакцию и пролиферацию. Проблемы при использовании немодифицированных материалов, таких как коллаген, хитозан, ПКЛ, ГА и желатин, в качестве матриц можно обойти сочетанием в одном композите двух или более различных материалов. Метод электропрядения может обеспечить с хорошей воспроизводимостью получение материала, формуемого далее в форму любой геометрии, с изменяемыми свойствами поверхности. Несмотря на эти достижения, новые материалы не решают всех проблем. Высвобождение *in vivo* побочных продуктов деструкции биорезорбируемых полимеров может приводить

к воспалительным процессам, так как ткань не способна эффективно выделять их из себя. Отсюда вытекает необходимость решения некоторых ключевых проблем: поиск биоматериалов, которые обеспечивают специфическое взаимодействие с клетками, выяснение молекулярных механизмов взаимодействий между клеткой и биоматериалом. Кроме этих критических моментов также очень важно детально изучить реакцию клеток на вводимые вещества, чтобы оценить безопасность длительного использования биоматериалов.

Литература

1. Hubbell JA. Biomaterials in tissue engineering. *Bio-Technology*, June 1995; 13(6): 565–576.
2. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science*, May 1993; 260(5110): 920–926.
3. Drury JL, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, Nov 2003; 24(24): 4337–4351.
4. Barnes CP, Sell SA, Boland ED, Simpson DG, Bowlin GL. Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds. *Advanced Drug Delivery Reviews* Dec 2007; 59(14): 1413–1433. *Biopolymeric Nanofibers for Tissue Engineering* 187.
5. Sato M, Webster TJ. Nanobiotechnology: Implications for the future of nanotechnology in orthopedic applications. *Expert Review of Medical Devices*, Sept 2004; 1(1):105–114.
6. Webster TJ, Siegel RW, Bizios R. Nanoceramic surface roughness enhances osteoblast and osteoclast functions for improved orthopaedic/dental implant efficacy. *Scripta Materialia*, May 2001; 44(8–9): 1639–1642.
7. Zhang YZ, Lim CT, Ramakrishna S, Huang ZM. Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *Journal of Materials Science–Materials in Medicine*, Oct 2005; 16(10): 933–946.
8. Fertala A, Han WB, Ko FK. Mapping critical sites in collagen II for rational design of gene-engineered proteins for cell-supporting materials. *Journal of Biomedical Materials Research*, Oct 2001; 57(1): 48–58.
9. Yoshimoto H, Shin YM, Terai H, Vacanti JP. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials*, May 2003; 24(12): 2077–2082.
10. Venugopal J, Ramakrishna S. Biocompatible nanofiber matrices for the engineering of a dermal substitute for skin regeneration. *Tissue Engineering*, May 2005; 11(5–6): 847–854.

11. Mo XM, Xu CY, Kotaki M, Ramakrishna S. Electrospun P(LLA-CL) nanofiber: A biomimetic extracellular matrix for smooth muscle cell and endothelial cell proliferation. *Biomaterials*, May 2004; 25(10): 1883–1890.
12. Luu YK, Kim K, Hsiao BS, Chu B, Hadjiargyrou M. Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers. *Journal of Controlled Release*, April 2003; 89(2): 341–353.
13. Price RL, Gutwein LG, Kaledin L, Tepper F, Webster TJ. Osteoblast function on nanophase alumina materials: Influence of chemistry, phase, and topography. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Dec 2003; 67A(4): 1284–1293.
14. Ma ZW, Kotaki M, Inai R, Ramakrishna S. Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Engineering*, Jan 2005; 11(1–2): 101–109.
15. Xu CY, Inai R, Kotaki M, Ramakrishna S. Electrospun nanofiber fabrication as synthetic extracellular matrix and its potential for vascular tissue engineering. *Tissue Engineering*, July–Aug 2004; 10(7–8): 1160–1168.
16. Frenot A, Chronakis IS. Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, March 2003; 8(1): 64–75.
17. Huang ZM, Zhang YZ, Kotaki M, Ramakrishna S. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, Nov 2003; 63(15): 2223–2253.
18. Subbiah T, Bhat GS, Tock RW, Pararneswaran S, Ramkumar SS. Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, April 2005; 96(2): 557–569.
19. Doshi J, Reneker DH. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*, Aug 1995; 35(2–3): 151–160.
20. Li WJ, Laurencin CT, Caterson EJ, Tuan RS, Ko FK. Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*, June 1960; (4): 613–621.
21. Pham QP, Sharma U, Mikos AG. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review. *Tissue Engineering*, May 2006; 12(5): 1197–1211.
22. Zhang YZ, Ouyang HW, Lim CT, Ramakrishna S, Huang ZM. Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B–Applied Biomaterials*, Jan 2005; 72B(1): 156–165.
23. Lee JS, Choi KH, Do Ghim H, Kim SS, Chun DH, Kim HY et al. Role of molecular weight of atactic poly(vinyl alcohol) (PVA) in the structure and properties of PVA nanofabric prepared by electrospinning. *Journal of Applied Polymer Science*, Aug 2004; 93(4): 1638–1646.

24. Zong XH, Kim K, Fang DF, Ran SF, Hsiao BS, Chu B. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*, July 2002; 43(16): 4403–4412.
25. Vert M, Li SM, Spenlehauer G, Guerin P. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. *Journal of Materials Science—Materials in Medicine*, Nov 1992; 3(6): 432–446.
26. Cheung HY, Lau KT, Lu TP, Hui D. A critical review on polymer-based bioengineered materials for scaffold development. *Composites Part B—Engineering*, 2007; 38(3): 291–300.
27. Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, Dec 2000; 21(24): 2529–2543.
28. Du C, Cui FZ, Zhu XD, de Groot K. Three-dimensional nano-HAp/collagen matrix loading with osteogenic cells in organ culture. *Journal of Biomedical Materials Research*, March 1999; 44(4): 407–415.
29. Grenga TE, Zins JE, Bauer TW. The rate of vascularization of coral-line hydroxyapatite. *Plastic and Reconstructive Surgery*, Aug 1989; 84(2): 245–249.
30. Ripamonti U, Duneas N. Tissue engineering of bone by osteoinductive biomaterials. *MRS Bulletin*, Nov 1996; 21(11): 36–39.
31. Landis WJ, Song MJ, Leith A, McEwen L, McEwen BF. Mineral and organic matrix interaction in normally calcifying tendon visualized in 3 dimensions by high-voltage electron-microscopic tomography and graphic image-reconstruction. *Journal of Structural Biology*, Jan–Feb 1993; 110(1): 39–54.
32. Jin HJ, Chen JS, Karageorgiou V, Altman GH, Kaplan DL. Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats. *Biomaterials*, March 2004; 25(6): 1039–1047.
33. Lee KY, Mooney DJ. Hydrogels for tissue engineering. *Chemical Reviews*, July 2001; 101(7): 1869–1879.
34. Salem AK, Rose F, Oreffo ROC, Yang XB, Davies MC, Mitchell JR, et al. Porous polymer and cell composites that self-assemble *in situ*. *Advanced Materials*, Feb 2003; 15(3): 210–213.
35. Boland ED, Pawlowski KJ, Barnes CP, Simpson DG, Wnek GE, Bowlin GL. Electrospinning of bioresorbable polymers for tissue engineering scaffolds. In *Polymeric Nanofibers*, D.H. Reneker and H. Fong, Eds., 2006; 188–204.
36. Matthews JA, Wnek GE, Simpson DG, Bowlin GL. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules*, March–April 2002; 3(2): 232–238.
37. Grinnell F. Cell-collagen interactions—Overview. *Methods in Enzymology*, 1982; 82: 499–503.
38. Shields KJ, Beckman MJ, Bowlin GL, Wayne JS. Mechanical properties and cellular proliferation of electrospun collagen type II. *Tissue Engineering*, Sept 2004; 10(9–10): 1510–1517.

39. Lazarus GS, Daniels JR, Brown RS, Bladen HA, Fullmer HM. Degradation of collagen by a human granulocyte collagenolytic system. *Journal of Clinical Investigation*, 1968; 47(12): 2622–2629.
40. Ma ZW, He W, Yong T, Ramakrishna S. Grafting of gelatin on electrospun poly(caprolactone) nanofibers to improve endothelial cell spreading and proliferation and to control cell orientation. *Tissue Engineering*, July 2005; 11(7–8): 1149–1158.
41. Kim IY, Seo SJ, Moon HS, Yoo MK, Park IY, Kim BC et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. *Biotechnology Advances*, 2008; 26: 1–21.
42. Madhally SV, Matthew HWT. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, June 1999; 20(12): 1133–1142.
43. Di Martino A, Sittinger M, Risbud MV. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*, Oct 2005; 26(30): 5983–5990.
44. VandeVord PJ, Matthew HWT, DeSilva SP, Mayton L, Wu B, Woolley PH. Evaluation of the biocompatibility of a chitosan scaffold in mice. *Journal of Biomedical Materials Research*, March 2002; 59(3): 585–590.
45. Kumar M. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, Nov 2000; 46(1): 1–27.
46. Hu QL, Li BQ, Wang M, Shen JC. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via *in situ* hybridization: A potential material as internal fixation of bone fracture. *Biomaterials*, Feb 2004; 25(5): 779–785.
47. Chandy T, Sharma CP. Chitosan—as a biomaterial. *Biomaterials Artificial Cells and Artificial Organs*, 1990; 18(1): 1–24.
48. Hirano S, Tsuchida H, Nagao N. N-Acetylation in chitosan and the rate of its enzymic-hydrolysis. *Biomaterials*, Oct 1989; 10(8): 574–576.
49. Onishi H, Machida Y. Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice. *Biomaterials*, Jan 1999; 20(2): 175–182.
50. Suh JKF, Matthew HWT. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. *Biomaterials*, Dec 2000; 21(24): 2589–2598.
51. Bhattarai N, Edmondson D, Veisoh O, Matsen FA, Zhang MQ. Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials*, Nov 2005; 26(31): 6176–6184.
52. Jayaraman K, Kotaki M, Zhang YZ, Mo XM, Ramakrishna S. Recent advances in polymer nanofibers. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, Jan–Feb 2004; 4(1–2): 52–65.
53. Shao ZZ, Vollrath F. Materials: Surprising strength of silkworm silk. *Nature*, Aug 2002; 418(6899): 741.
54. Altman GH, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen JS, et al. Silk-based biomaterials. *Biomaterials*, Feb 2003; 24(3): 401–416.

55. Brooks G. Silk proteins in cosmetics. *Drug and Cosmetic Industry*, Oct 1989; 145(4): 32.
56. Inoue S, Tanaka K, Arisaka F, Kimura S, Ohtomo K, Mizuno S. Silk fibroin of Bombyx mori is secreted, assembling a high molecular mass elementary unit consisting of H-chain, L-chain, and P25, with a 6:6:1 molar ratio. *Journal of Biological Chemistry*, Dec 2000; 275(51): 40517–40528.
57. Kodrik D. Small protein-components of the cocoons in Galleria-Mellonella (Lepidoptera, Pyralidae) and Bombyx-Mori (Lepidoptera, Bombycidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 1992; 89(4): 269–273.
58. Jin HJ, Park J, Valluzzi R, Cebe P, Kaplan DL. Biomaterial films of Bombyx mori silk fibroin with poly(ethylene oxide). *Biomacromolecules*, May–June 2004; 5(3): 711–717.
59. Panilaitis B, Altman GH, Chen JS, Jin HJ, Karageorgiou V, Kaplan DL. Macrophage responses to silk. *Biomaterials*, Aug 2003; 24(18): 3079–3085.
60. Buchko CJ, Chen LC, Shen Y, Martin DC. Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer*, Dec 1999; 40(26): 7397–7407.
61. Liu Y, Chen J, Misoska V, Wallace GG. Preparation of novel ultrafine fibers based on DNA and poly(ethylene oxide) by electrospinning from aqueous solutions. *Reactive and Functional Polymers*, May 2007; 67(5): 461–467.
62. Takahashi T, Taniguchi M, Kawai T. Fabrication of DNA nanofibers on a planar surface by electrospinning. *Japanese Journal of Applied Physics Part 2—Letters and Express Letters*, 2005; 44(24–27): L860–L862.
63. Nagapudi K, Brinkman WT, Thomas BS, Park JO, Srinivasarao M, Wright E et al. Viscoelastic and mechanical behavior of recombinant protein elastomers. *Biomaterials*, Aug 2005; 26(23): 4695–4706.
64. Yang F, Murugan R, Ramakrishna S, Wang X, Ma YX, Wang S. Fabrication of nano-structured porous PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering. *Biomaterials*, May 2004; 25(10): 1891–1900.
65. Katti DS, Robinson KW, Ko FK, Laurencin CT. Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: Optimization of fabrication parameters. *Journal of Biomedical Materials Research Part B—Applied Biomaterials*, Aug 2004; 70B(2): 286–296.
66. Zong XH, Bien H, Chung CY, Yin LH, Fang DF, Hsiao BS, et al. Electrospun fine-textured scaffolds for heart tissue constructs. *Biomaterials*, Sep 2005; 26(26): 5330–5338.
67. Boland ED, Matthews JA, Pawlowski KJ, Simpson DG, Wnek GE, Bowlin GL. Electrospinning collagen and elastin: Preliminary vascular tissue engineering. *Frontiers in Bioscience*, May 2004; 9: 1422–1432.

68. You Y, Lee SW, Youk JH, Min BM, Lee SJ, Park WH. *In vitro* degradation behaviour of non-porous ultra-fine poly(glycolic acid)/poly(L-lactic acid) fibres and porous ultra-fine poly(glycolic acid) fibres. *Polymer Degradation and Stability*, Dec 2005; 90(3): 441–448.
69. Li SM, Garreau H, Vert M. Structure–property relationships in the case of the degradation of massive poly(alpha-hydroxy acids) in aqueous media. 3. Influence of the morphology of poly(L-lactic acid). *Journal of Materials Science–Materials in Medicine*, Nov 1990; 1(4): 198–206.
70. Li SM, Garreau H, Vert M. Structure–property relationships in the case of the degradation of massive aliphatic poly-(alpha-hydroxy acids) in aqueous media. 1. Poly(DL-lactic acid). *Journal of Materials Science–Materials in Medicine*, Oct 1990; 1(3): 123–130.
71. Li SM, Garreau H, Vert M. Structure–property relationships in the case of the degradation of massive poly(alpha-hydroxy acids) in aqueous media. 2. Degradation of lactide-glycolide copolymers–Pla37.5ga25 and Pla75ga25. *Journal of Materials Science–Materials in Medicine*, Oct 1990; 1(3): 131–139.
72. Agrawal CM, Athanasiou KA. Technique to control pH in vicinity of biodegrading PLA-PGA implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, Summer 1997; 38(2): 105–114. *Biopolymeric Nanofibers for Tissue Engineering* 191.
73. Wang XD, Agrawal CM. Interfacial fracture toughness of tissue-bio-material systems. *Journal of Biomedical Materials Research*, Spring 1997; 38(1): 1–10.
74. Liao SS, Cui FZ, Zhang W, Feng QL. Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: Nano-HA/collagen/PLA composite. *Journal of Biomedical Materials Research Part B–Applied Biomaterials*, May 2004; 69B(2): 158–165.
75. Kwon IK, Kidoaki S, Matsuda T. Electrospun nano- to microfiber fabrics made of biodegradable copolyesters: Structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion potential. *Biomaterials*, June 2005; 26(18): 3929–3939.
76. Sung HJ, Meredith C, Johnson C, Galis ZS. The effect of scaffold degradation rate on three-dimensional cell growth and angiogenesis. *Biomaterials*, Nov 2004; 25(26): 5735–5742.
77. Jeon SI, Andrade JD. Protein surface interactions in the presence of polyethylene oxide. 2. Effect of protein size. *Journal of Colloid and Interface Science*, March 1991; 142(1): 159–166.
78. Jeon SI, Lee JH, Andrade JD, Degennes PG. Protein surface interactions in the presence of polyethylene oxide. 1. Simplified theory. *Journal of Colloid and Interface Science*, March 1991; 142(1): 149–158.
79. Owens DE, Peppas NA. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, Jan 2006; 307(1): 93–102.

80. Yang SF, Leong KF, Du ZH, Chua CK. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part 1. Traditional factors. *Tissue Engineering*, Dec 2001; 7(6): 679–689.
81. Damien CJ, Parsons JR. Bone-graft and bone-graft substitutes — A review of current technology and applications. *Journal of Applied Biomaterials*, Fall 1991; 2(3): 187–208.
82. Hench LL, Wilson J. Surface-active biomaterials. *Science*, 1984; 226(4675): 630–636.
83. Du C, Cui FZ, Zhang W, Feng QL, Zhu XD, de Groot K. Formation of calcium phosphate/collagen composites through mineralization of collagen matrix. *Journal of Biomedical Materials Research*, June 2004; 50(4): 518–527.
84. Ruszczak Z. Effect of collagen matrices on dermal wound healing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Nov 2003; 55(12): 1595–1611.
85. Khil MS, Cha DI, Kim HY, Kim IS, Bhattarai N. Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. *Journal of Biomedical Materials Research Part B—Applied Biomaterials*, Nov 2003; 67B(2): 675–679.

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОКОМПОЗИТОВ

Перрин Бордес, Эрик Поллет и Люк Аверус

Страсбургский университет, Франция

8.1. Введение

8.1.1. Общие сведения

Большинство современных синтетических полимеров являются продуктами нефтехимического синтеза и не относятся к биоразлагаемым веществам. Каждый понимает неразумность использования долговечных полимеров в изделиях с короткой сроком службы, например в упаковке техники и продуктов питания, хирургических принадлежностях и продуктах гигиены — вопросы сохранности экологических систем сегодня находятся на первом плане. И действительно, «вечные» полимеры в конечном счете приносят существенный вклад в загрязнение окружающей среды. Например, бесчисленные пластиковые пакеты попадают в океан и наносят вред морской флоре и фауне [1]. Переработка отходов из пластмасс также вредна для окружающей среды. Положительный эффект, заключающийся в выработке энергии сжиганием, не может превзойти отрицательный от выделения при этом токсинов (например, диоксинов). Для вторичной переработки материалов трудно найти экономически оправданный способ, к тому же вторичная переработка пластиков демонстрирует отрицательный экобаланс (это связано с необходимостью отмывать пластиковые отходы перед их переработкой). Кроме того, на всех этапах процесса (измельчение отходов и переработка пластиков) требуется энергия. Так как пластики составляют значительную долю различных отходов на местном, региональном и национальном уровнях, учреждения хорошо осведомлены о преимуществах использования биоразлагаемых материалов вместо обычных пластиков.

Потенциал биоразлагаемых полимеров исследуется не первый год в связи с проблемой исчерпания невозобновляемых ресурсов. Ископаемое топливо и газ могут быть частично заменены природосберегающими источниками, использование которых сократит выбросы CO_2 [1]. Однако высокая стоимость биоразлагаемых полимеров пока сдерживает разработку технологий для промышленных нужд.

8.1.2. Биоразложение и компостируемость

Стандарту ASTM D-5488-94d соответствует материал, способный к биоразложению до диоксида углерода, метана, воды, неорганических соединений. Преобладающий механизм разложения основан на ферментативном действии микроорганизмов. Биоразложение может быть измерено при помощи стандартных тестов — за определенный период времени, при оговоренных условиях, при этом анализируемой средой может быть жидкость, инертная или компостная среда.

Компостируемость — это биоразложение материала при использовании в качестве среды компоста. Биоразложение — это разложение органического материала, вызванное биологической активностью, такой как ферментативная активность микроорганизмов. Разложение приводит к существенным изменениям химической структуры материала. Конечными продуктами являются диоксид углерода, новая биомасса и вода (в присутствии кислорода, т. е. в аэробных условиях) или метан (в отсутствии кислорода, в анаэробных условиях), как определено Европейским стандартом EN 13432:2000.

Для определения уровня компостируемости должны быть реализованы определенные, в зависимости от типа используемого стандарта (ASTM, EN), условия компостирования (влажность, температурный цикл) [2]. Таким образом, сравнивать результаты, полученные по различным стандартам (ASTM, ISO, NF), нельзя. Наряду с образованием побочных продуктов биоразложения и нужно принимать во внимание степень минерализации [3]. Накапливание загрязнителей почвы, образующихся от токсических остатков компостов, может вызвать ухудшение, замедление роста растений. Определение уровня загрязнения окружающей среды такими субпродуктами (экотоксичность) — чрезвычайно важный процесс [4]. Известны некоторые общие правила, которые дают возможность определения эволюции биоразложения. Например, с увеличением гидрофобности, молекулярной массы макромолекул, кристалличности или размеров сферолитов биоразложение уменьшается [5].

8.1.3. Возобновляемость ресурсов и устойчивое развитие

Возобновляемость ресурсов связана с концепцией устойчивого развития. Всемирная комиссия ООН по окружающей среде и развитию под устойчивым понимает такое развитие, которое удовлетворяет потребности настоящего времени, но не ставит под угрозу способность будущих поколений удовлетворять свои собственные потребности. Принимая во внимание эту концепцию, выпускаемая продукция (например, упаковка) должна быть разработана и спроектирована «от начала до конца» [1]. Использование ежегодно возобновляемой биомассы должно быть правильно рассчитано с точки зрения полного цикла превращения углерода. Круговорот углерода — это процесс перемещения углерода между различными «резервуарами» планеты: литосферой (известняк), биосферой (растения и животные), гидросферой (бикарбонаты, растворенные в океанах) и атмосферой (CO_2). Активность

человека в последнее время, проявляющаяся в масштабных и интенсивных выбросах CO_2 в атмосферу (сжигание ископаемого топлива и массивная вырубка лесов), нарушает устойчивость круговорота углерода, так как не может быть полностью компенсирована фотосинтезом и растворением в океанах. Это приводит к большому аккумулярованию диоксида углерода в атмосфере. Парниковые газы, к которым относится CO_2 , способствуют глобальному потеплению. Необходимо заново балансировать круговорот углерода с учетом уменьшения количества CO_2 в атмосфере. Часть восстанавливающего равновесие круговорота углерода основана на развитии и производстве продуктов из возобновляемых и биоразлагаемых ресурсов. Сбором и компостированием биоразлагаемых пластиковых отходов мы можем собирать нужный обогащенный углеродом компост — гумусовые вещества. Это ценное удобрение для почвы, которое можно вернуть на сельскохозяйдья и тем самым «реинициировать» круговорот углерода. В свою очередь, более интенсивный от удобрений рост растений через фотосинтез уменьшает аккумулярование CO_2 в атмосфере. Компостирование, являясь важной составляющей в мероприятиях по получению устойчивой сельскохозяйственной системы, ценно еще и тем, что уменьшает потребность в химических удобрениях.

8.1.4. Классификация биоразлагаемых полимеров

Биоразлагаемые полимеры, также известные как биополимеры, чрезвычайно востребованы как объекты исследований [6–8]. Эти полимеры (целлюлоза, хитин, крахмал, полигидроксиалканоаты, полилактиды, поликапролактон, коллаген и другие полипептиды) не только получают синтезом — они образуются в природе. Были идентифицированы некоторые микроорганизмы и ферменты, способные разрушать такие полимеры [6, 9]. Для биоразлагаемых полимеров предложены различные классификации. Например, их можно группировать в соответствии с процессом синтеза [10]: (1) полимеры, выделяемые из биомассы, из агресурсов (т. е. крахмал или целлюлоза), (2) полимеры, получаемые с помощью микробов, такие как полигидроксиалканоаты, (3) полимеры, синтезированные традиционным химическим путем (в этом случае из агресурсов получают мономеры, например полимолочную кислоту), (4) полимеры и мономеры из нефтяных ресурсов. Первые три категории (1–3) получаются из возобновляемых ресурсов. Также биоразлагаемые полимеры можно разделить на две основные категории: агрополимеры (категория 1) и биоразлагаемые сложные полиэфиры или сложные биополиэфиры (категории 2–4).

С целью улучшения свойств и расширения диапазона применения этих биополимеров следует рассмотреть следующие подходы: (1) химическая модификация биополимера и (2) его сочетание с другими веществами — комбинирование с другими полимерами (смешение, организация в мультислой) или нанонаполнение (нанобиокомпозиты) [10]. Второй подход обычно предпочтительнее, так как химическая модифи-

кация более дорогостоящий путь, кроме того, побочные продукты могут оказаться токсичными. Разработка нанобиокompозитов будет описана в деталях ниже.

8.1.5. Нанобиокompозиты

В научной литературе термины «нанобиокompозиты» или «бионанокompозиты» появились несколько десятилетий назад для описания нового класса материалов. Концепция, однако, также распространялась на обычные нанокompозиты, а не только на наноструктурированные материалы, получающиеся при добавлении малых количеств (менее 10%) наноразмерных наполнителей в биополимерные матрицы. Исследования таких материалов были инициированы в начале 1990-х годов благодаря растущему интересу к *environmentally friendly*-материалам, т. е. безвредных для окружающей среды, и до сих пор поток новой информации о структуре и свойствах нанобиокompозитов не ослабевает.

Как и в случае обычных нанокompозитов [11], нанобиокompозиты готовятся с использованием различных нанонаполнителей. Эти наполнители можно классифицировать в соответствии с формой их частиц: слоистые (глины), сферические (кремний) или игольчатые (нити целлюлозы, углеродные нанотрубки). Свойства получающихся композитов зависят от специфических геометрических размеров частиц или аспектного отношения. Существенное улучшение различных свойств композитов может быть достигнуто при сильном взаимодействии между полимером и нанонаполнителем и хорошей дисперсности.

Наполнители вводятся в биополимерные матрицы для улучшения их свойств, при этом биоразложение или биосовместимость такого материала с живыми тканями сохраняется. Биополимеры привлекают все больший интерес из-за угрозы исчерпания природных ресурсов и возрастания озабоченности загрязнения окружающей среды. Это подтолкнуло ученых и промышленников к исследованиям биоразлагаемых безвредных материалов. В идеале биополимеры должны производиться из возобновляемых источников при минимальных затратах энергии. Тем не менее большинство биополимеров стоят дороже, чем синтетические полимеры, и их свойства недостаточно хороши (низкая термическая стабильность, высокая чувствительность к влаге) для окончательного использования. Таким образом, нанобиокompозиты появились как перспективный ответ на запрос концепции устойчивого развития.

Наиболее изучаемыми биополимерными нанокompозитными матрицами являются сложные биополиэфир, такие как поликапролактон (ПКЛ) [12–17], полимолочная кислота (ПМК) [18–26] и агрополимеры [27–30], (в том числе пластифицированный крахмал, также называемый «термопластичный крахмал»). В последние десятилетия большое значение благодаря широкому диапазону свойств приобретает другой класс биополимеров — полигидроксиспирты (ПГА), которые образуются при помощи микроорганизмов. К сожалению, некоторые из ПГА, такие как полигидроксипропан (ПГП) и сополимер

полигидроксibuтирата и полигидроксивалерата (ПГВВ), проигрывают обычным полимерам. Поэтому интересно разработать новые нанобиокомпозиты на основе ПГА и материалов, безвредных для окружающей среды, которые в конце концов заменят обычные синтетические небоиоразлагаемые полимеры.

Далее приведен обзор различных ПГА с рассмотрением их основных преимуществ и недостатков. Затем будут описаны основные достижения, полученные при использовании нанобиокомпозитов ПГА с наноглиной.

8.2. Полигидроксиалканоаты

8.2.1. Синтез

Поли-3-гидроксibuтират (ПГБ), наиболее распространенный ПГА, впервые был открыт в 1926 году [31, 32], но интенсивно использовать его начали только в начале 1980-х годов на подъеме озабоченности проблемами конечности природных ресурсов и загрязнения окружающей среды.

Полигидроксиалканоаты образуются в природе при помощи микроорганизмов из различных углеродсодержащих субстратов. Прокариотические организмы во всем широком разнообразии [33, 34] аккумулируют ПГА в количествах от 30 до 80% от своего клеточного сухого веса. ПГБ образуются при сбалансированных условиях роста, когда клетки испытывают дефицит необходимых питательных веществ, но выдерживаются при избытке углерода [33]. В зависимости от углеродсодержащих веществ и метаболизма микроорганизмов могут быть получены различные мономеры, а значит, и сополимеры [33, 35, 36] (рис. 8.1 и табл. 8.1). Важнейший полимер из класса полигидроксиалканоатов — это гомополимер полигидроксibuтира (ПГБ), но существуют еще разные сложные полиэфиры — поли(гидроксibuтират-со-гидроксиалканоаты): поли(гидроксibuтират-со-гидроксивалерат) (ПГВВ) или поли (гидроксibuтират-со-гидроксигексаноат) (ПГБГ) и поли(гидроксibuтират-со-гидроксиоктадеканеоат) (ПГБГО) и т. д. Более того, в зависимости от длины боковой цепи можно рассмотреть два основных класса ПГА. Первый класс — это короткоцепные ПГА (кцпПГА), полимерные цепи которых в основном состоят не более чем из пяти атомов углерода, а второй класс — это ПГА с цепями средней длины (мдл-ПГА) с большей длиной боковых цепей (см. рис. 8.1).

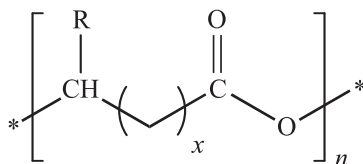


Рис. 8.1. Общая химическая структура полигидроксиалканоатов (ПГА)

Таблица 8.1

Наиболее распространенные полигидроксиалканоаты (см. рис. 8.1)

<i>n</i>	R	ПГА	
1	H	поли-3-гидроксипропионат	ПЗГП
	CH ₃	поли-3-гидроксibuтират	ПЗГБ (или ПГБ)
	CH ₃ , C ₂ H ₅	поли-3-(гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерат)	ПЗГБЗГВ
	CH ₃ , C ₃ H ₇	поли-3-(гидроксibuтират-со-3-гидроксигексаноат)	ПЗГБЗГГ
	C ₅ H ₁₁	поли-3-гидроксиоктаноат	ПЗГО
2	H	поли-4-гидроксibuтират	П4ГБ
–	H	поли-3-(гидроксibuтират-со-4-гидроксibuтират)	ПЗГБ4ГБ

Благодаря прогрессу биотехнологии в последнее время стало возможным не только получать искусственным путем бактерии [34], но также выращивать модифицированные растения [34, 37, 38], которые будут продуцировать такие полимеры. Однако критическими для синтеза чистого ПГА являются процессы восстановления (экстракции и очистки), что делает процесс получения ПГА дорогостоящим. Чистый синтетический ПГА может быть получен полимеризацией с раскрытием кольца из бутиролактона и других лактонов [39–44]. В соответствии с особенностями этого синтеза формируются различные структуры. Например, нами был получен изотактический полимер со случайной стереопоследовательностью для бактериальных сложных сополиэфиров и частично стереорегулярный блок для синтетических сложных сополиэфиров. Недавно Компания Монсаното (Monsanto Inc.) разработало генетическую модификацию растений, чтобы они производили небольшие количества ПГБ [37, 45, 46].

8.2.2. Свойства

ПГБ — это высококристаллический биополиэфир высокой степени кристалличности (выше 55%) с температурой стеклования (T_g) немного выше 0 °C (табл. 8.2), относительно твердый и хрупкий. Его модуль упругости достигает 3,5 ГПа, а относительное удлинение при разрыве — менее 5%. Температура плавления ПГБ довольно высокая ($T_{пл} = 170–180$ °C) по сравнению с другими биоразлагаемыми полимерами, и его температура деструкции близка к температуре плавления. Гомополимер ПГБ, таким образом, имеет узкий температурный интервал переработки. Термическая [47–54] и термомеханическая [55, 56] стабильность ПГБ хорошо изучены. Термическая деструкция — одноступенчатый процесс, происходящий по механизму случайного разрыва связи в макромолекулах (рис. 8.2). При переработке возрастание скорости сдвига, температуры или времени пребывания в экструдере [57] приводит к быстрому уменьшению вязкости ПГБ и его молекулярной массы из-за разрыва цепей.

Таблица 8.2

Сравнение свойств основных полигидроксисилканоатов [10, 33, 50, 105]

Полимер	$T_c, ^\circ\text{C}$	$T_{пл}, ^\circ\text{C}$	Крис- таллич- ность, %	Модуль Юнга, ГПа	Прочность при растя- жении, МПа	Относи- тельное удли- нение при разрыве, %
ПГБ	0–10	170–180	>55	3,5	40	<5
ПЗГБЗГВ	–	–	50–55	–	–	–
3% (мол.) ГВ	8	170	–	2,9	38	–
9% (мол.) ГВ	6	162	–	1,9	37	20
20% (мол.) ГВ	–1	145	–	1,2	32	100
25% (мол.) ГВ	–6	137	–	0,7	30	–
ПЗГБ4ГБ						
3% (мол.) 4ГБ	–	166	–	–	28	45
10% (мол.) 4ГБ	–	159	46	–	24	240
64% (мол.) 4ГБ	–	50	–	30	17	590
90% (мол.) 4ГБ	–	50	–	100,0	65	1080
П4ГБ	–50	60	150	10	105	1000
ПЗГБЗГГ	–4	50	–	–	20	850
ПГО	–35	60	30	–	6–10	300–450
ПП	–10	170	50–70	1,7	38	400
ПЭТФ	70	260	30–50	2,9	70	100
ПМК	60	170–180	>40	2,1	–	9
ПКЛ (CAPAR680)	–60	60	67	0,2	–	>500

Были исследованы разные способы оптимизации переработки ПГБ [58], включая пластификацию сложным эфиром лимонной кислоты. Сополимеры ПГБВ лучше адаптированы к переработке в расплаве, так как увеличение содержания ГВ приводит к понижению температуры плавления и стеклования [59]. Более высокие концентрации ГВ также ведут к возрастанию ударной вязкости, понижению кристалличности [60], прочности при растяжении [61] (см. табл. 8.2) и водопроницаемости [60]. Следовательно, свойства материала можно изменять варьированием содержания ГВ. Свойства ПГБВ также можно модифицировать при помощи пластификаторов (сложных эфиров лимонной кислоты, триацетина) [61, 62].

Относительно биodeградации заметим, что скорость ферментативного разложения зависит от кристалличности, структуры [5, 63] и истории переработки [64]. Бактериальное разложение сополиэфиров проходит быстрее, чем в гомополимерах [65] и синтетических сополиэфирах [66].

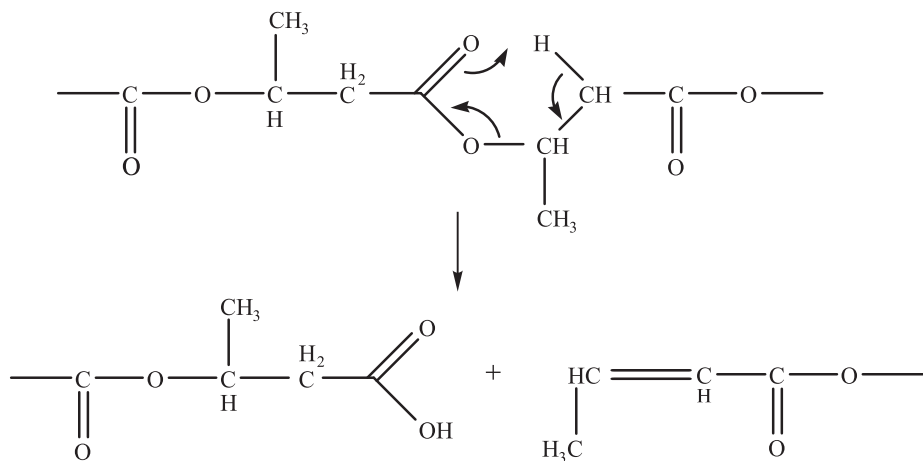


Рис. 8.2. Механизм случайного разрыва связи молекулы полигидроксibuтирата. Взято с разрешения из [72]

8.2.3. Производство и применение

Широкий ассортимент бактериальных сополимеров с содержанием ГВ до 20% выпускала Monsanto Inc. под маркой Biopol®, однако в конце 1999 году производство было остановлено. С 2001 года права на Biopol® принадлежат Metabolix. В настоящее время Telles™ (совместное предприятие Metabolix и Archer Daniels Midlands Company, ADM) может производить новый биоразлагаемый пластик из зернового сахара. ADM начал строить первый завод в Клинтоне (штат Айова) с производительностью 50 000 тонн в год.

Производство бактериальных ПГА налажено в разных небольших компаниях. Например, PNB Industrial (Бразилия) производит ПГБ и ПГБВ (ГВ = 12%) из патоки сахарного тростника [63]. Планировалось, что это производство выйдет на уровень 4000 тонн ПГА в год в 2008 году и затем будет увеличено до 14 000 тонн в год [67]. В 2004 году Procter & Gamble (Цинциннати, Огайо) и Kaneka Corporation (Осака, Япония) объявили о совместной деятельности в области научно-исследовательских и опытно-конструкторских разработок для получения прибыли от реализации продуктов Nodax — широкого ассортимента полигидроксibuтират-со-гидроксиалканоатов [68]. Хотя промышленное производство планировалось с ориентировочной ценой примерно 2 евро за килограмм, планам не суждено было сбыться, производство Nodax в 2006 году было остановлено [69].

Цель производства ПГА — замена синтетических неразлагаемых полимеров широкого спектра применения [69] (например, упаковка бытовых товаров, защитная пленка в сельском хозяйстве, упаковка изделий медицинского назначения) [35, 70] на аналоги, не наносящие вреда

окружающей среде. Тем не менее хрупкость ПГА полимеров, их низкие термическая стабильность, механические свойства и проницаемость ограничивают их использование и развитие. Разработка нанобиокомпозитов на их основе предоставляет возможности преодоления этих проблем.

8.3. Нанобиокомпозиты на основе ПГА

Для приготовления нанобиокомпозитов в полимеры могут вводиться различные нанонаполнители. Наиболее часто с этой целью используются слоистые силикаты или наноглины благодаря высокому аспектному отношению и большой площади поверхности частиц.

8.3.1. Наноккомпозиты ПГА/глина

8.3.1.1. Введение

Наиболее часто из глин в наноккомпозитах применяют филлосиликаты 2 : 1 (монтморилланит, сапонит). Их структура состоит из слоев, построенных из двух тетраэдрически скоординированных атомов кремния, соединенных общими сторонами октаэдра гидроксидами либо алюминия, либо магния (рис. 8.3 и табл. 8.3). Толщина каждого слоя — около 1 нм, длина меняется от десятков нанометров до более чем 1 мкм в зависимости от слоистого силиката. При укладке слоев образуются регулярные пустоты, которые называются межслоевым пространством или галереями. Изоморфическое замещение может происходить внутри пластины. Так, Al^{3+} может быть заменен на Mg^{2+} или на Fe^{2+} , а Mg^{2+} — на Li^+ . Итоговый общий отрицательный заряд пластин естественно балансируется щелочными или щелочноземельными катионами (Na^+ , Ca^{2+}), расположенными на галереях, что увеличивает гидрофильный характер глины. Однако большинство полимеров, особенно биополиэфиров, считаются лиофильными соединениями (лиофильность — свойство веще-

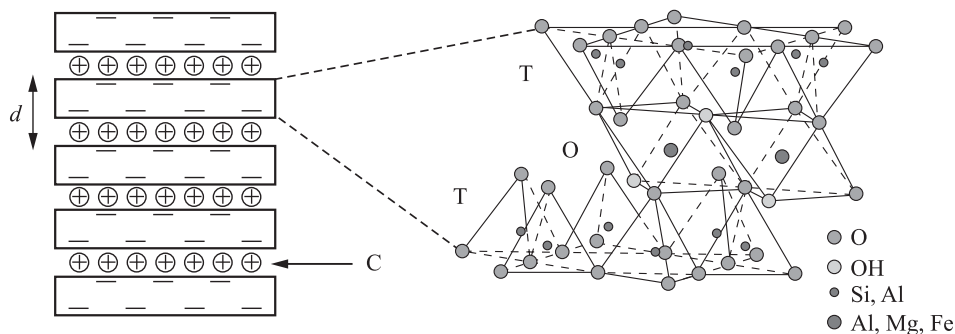


Рис. 8.3. Структура слоистого силиката 2 : 1 (Т — тетраэдры в листе; О — октаэдры в листе; С — интеркалируемые катионы; d — расстояние между слоями). Взято с разрешения из [106]

ства, означающее его химическое сродство к органическим веществам, по сути синоним гидрофобности). Поэтому чтобы обеспечить сродство между наполнителем и матрицей и, в конечном счете, улучшить свойства материала, неорганические катионы, расположенные внутри галерей (Na^+ , Ca^{2+}), обычно замещают на катионы аммония или фосфония, имеющие не меньше одной длинной алкильной цепи и, возможно, другие замещенные группы. Такие глины называются органомодифицированными слоистыми силикатами (ОМСС). В случае монтмориллонита (ММТ) соединение обозначают аббревиатурой ОММТ. Данная органомодификация путем улучшения сродства между матрицей и наполнителем может повлиять на наноструктуру материала и, следовательно, изменить свойства нанокомпозита. Таблицы 8.3 и 8.4 иллюстрируют характеристики основных силикатов 2 : 1 и коммерческих глин.

Таблица 8.3

Структурные характеристики основных слоистых силикатов 2 : 1

Филлосиликаты	Содержание в октаэдре	Катионообменная емкость, мэкв/100 г	Аспектное отношение частиц смектита
<i>Смектиты</i>			
Гектит	Mg (3/3)	120	200–300
Монтмориллонит	Al (2/3)	110	100–150
Сапонит	Mg (3/3)	86,6	50–60

Перепечатано с разрешения из [11]

Таблица 8.4

Некоторые коммерческие органоглины и их характеристики

Поставщик, торговая марка и обозначение		Вид глины	Вид органического модификатора*
<i>Southern Clay Products, США</i>			
Cloisite®Na	CNa	ММТ	–
Cloisite®20A	C20A	ММТ	$\text{N}^+(\text{Me})_2$ (остаток жирных кислот) ₂
Cloisite®25A	C25A	ММТ	$\text{N}^+(\text{Me})_2(\text{C}_8)$ (остаток жирных кислот)
Cloisite®30B	C30B	ММТ	$\text{N}^+(\text{Me})(\text{EtOH})_2$ (остаток жирных кислот)
<i>Laviosa Chimica Mineraria, Италия</i>			
Dellite®43B	D43B	ММТ	$\text{N}^+(\text{Me})_2(\text{CH}_2\text{-ф})$ (остаток жирных кислот)
<i>CBC Co., Япония</i>			
Somasif	MEE	SFM	$\text{N}^+(\text{Me})(\text{EtOH})_2$ (коко-алкилос)
	MAE	SFM	$\text{N}^+(\text{Me})_2$ (остаток жирных кислот) ₂

* Остаток жирных кислот представляет собой смесь длинных алкильных цепей (~65% C18; ~30% C16; ~5% C14).

Другим важным ключевым фактором получения нанобиокомпозита является технология его приготовления. Применяются три основных метода: (1) интеркаляция растворителя, заключающаяся в набухании слоистых силикатов в полимерном растворителе для инициирования диффузии макромолекул в межслоевое пространство глины; (2) полимеризация *in situ* — метод интеркаляции, при котором слоистые силикаты набухают в мономере или растворе мономера перед полимеризацией, и (3) процесс интеркаляции в расплаве, основанный на переработке полимеров в расплавленном состоянии, например экструзией. Очевидно, последний метод предпочтителен в контексте устойчивого развития, так как в нем не задействуются неэкологичные органические растворители, которые меняют анализ жизненного цикла. Добавление в качестве нанонаполнителей слоистых силикатов в биополимерную матрицу может привести к формированию разных структур нанобиокомпозитов:

- микрокомпозиты, когда слои глины перемежаются со слоями полимера, наполнитель не интеркалирован в ОММТ-слои из-за слабого сродства полимера и глины, наблюдается фазовое разделение;
- интеркалированные нанокompозиты, когда полимер частично интеркалирован между слоями силиката; слои по-прежнему перемежаются, но расстояние между ними больше, чем в микрокомпозитах;
- эксфолиированные нанокompозиты, когда в матрице хорошо диспергированы индивидуальные пластины глины; в этом случае слоистая структура больше не существует.

Основной интерес представляют структуры, которые производятся из возобновляемых источников (экстрагируются из микроорганизмов). Таким образом, при изучении возможностей получения нанобиокомпозитов на основе ПГА рассматриваются только способы интеркаляции в растворе и расплаве.

8.3.1.2. Структура и свойства нанокompозитов на основе ПГА

В работе [71] первоначально нанокompозиты на основе ПГБ были приготовлены экструзией из расплава. ПГБ армировали органомодифицированной фторированной слюдой или ОММТ с концентрацией 2 и 4% (масс.) соответственно. Из глины брали МЕЕ и МАЕ, фторированную слюду (см. табл. 8.4) и ОММТ, модифицированный октадециаммонием $\text{MMT-NH}_2(\text{C18})$. Дифракция рентгеновских лучей и просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) показали хорошо упорядоченные интеркалированные нанокompозиты, свободное пространство между слоями которых уменьшается при увеличении содержания глины (рис. 8.4). Термомеханический анализ (ТМА) показал, что фторированная слюда оказывает более выраженное действие, нежели ОММТ. Модуль упругости E' с увеличением содержания глины возрастал: прирост составил 35% при содержании 3,6% (масс.). В случае когда композит содержал 2% МАЕ и МЕЕ, E' увеличился на 33% и 40% соответственно. Авторы работы [71] объясняют эту разницу лучшей дисперсностью и более

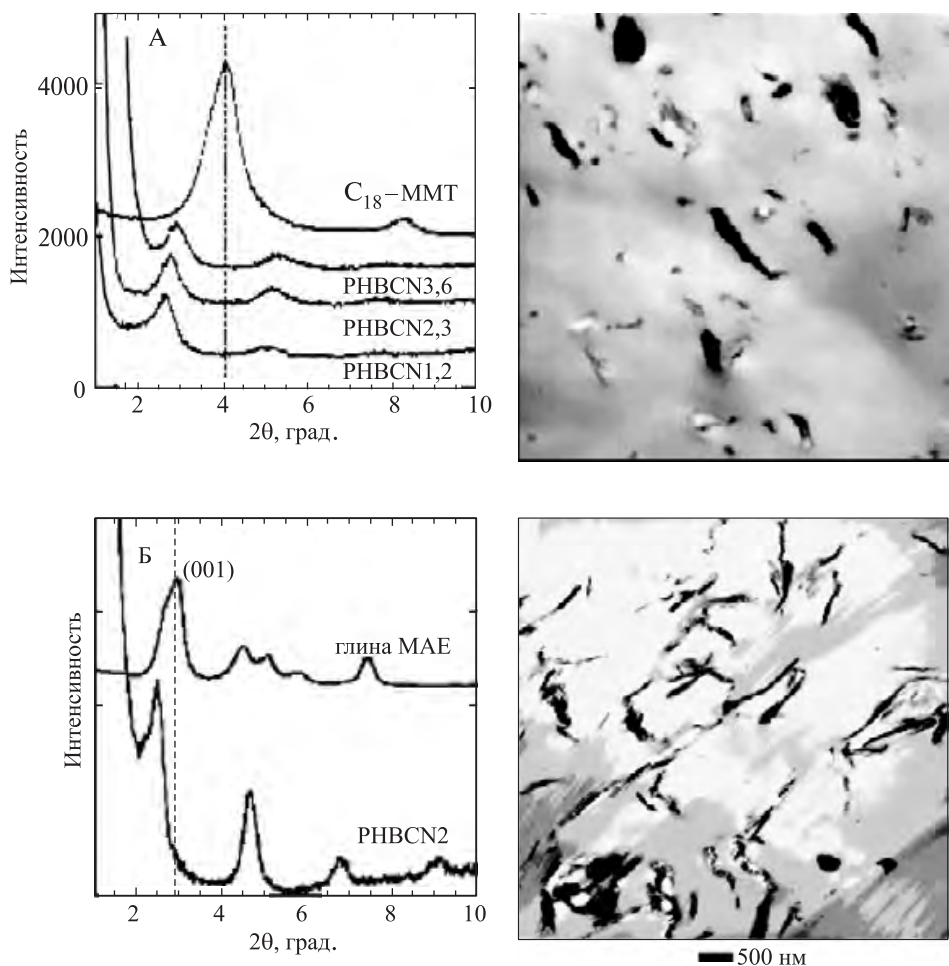


Рис. 8.4. Дифрактограммы (слева) и светлопольная микрофотография нанокомпозитов, полученных просвечивающей электронной микроскопией (справа): А — ПГБ/С18-ММТ и Б — ПГБ/МАЕ-SFM. Взято с разрешения из [73]

высоким аспектным отношением частиц в случае наполнения композита фторированной слюдой по сравнению с использованием ОММТ. Кроме того, они подчеркивают увеличение разложения ПГБ, которое происходит в присутствии ОММТ, из-за гидролиза сложноэфирных связей, катализируемого алюминиевыми солями кислот Льюиса, находящимися на поверхности неорганических слоев глины, что приводит к снижению механических характеристик композита. Недавно Хаблот с коллегами [72] обнаружили, что причиной более интенсивного разложения ПГБ при переработке в расплаве может также являться разложение органоимодификаторов глины.

Влияние органоглин на свойства ПГБ было дополнительно изучено и опубликовано в более поздней статье [73]. Что касается тепловых свойств, было показано, что органоглины препятствуют массопереносу, как следует из термогравиметрических кривых, которые сдвинуты в область более высоких температур. Также было отмечено, что частицы глины ведут себя как зародышеобразователи, даже если материал нанокомпозита обладает более низкой степенью кристалличности по сравнению с чистым полимером. Однако в этой публикации [73] основное внимание было уделено исследованию биоразложения. За биодegradацией в компосте наблюдали при двух различных температурах (20 и 60 °C). Исследования были дополнены опытами с применением дифракции рентгеновских лучей и оптической поляризованной микроскопии. Результаты позволили сделать предположение, что степень кристалличности сильно влияет на биоразложение, особенно при более высокой температуре компоста. В процессе биодegradации при 60 °C происходит дальнейшая кристаллизация, приводя к повышению степени кристалличности материала и, таким образом, снижая скорость биоразложения при этой температуре компоста. Более того, для нанокомпозитов скорость биодegradации была выше за счет более высокого содержания аморфной фазы и каталитического эффекта глины. В конечном счете было показано, что контроль режимов переработки материалов и их степени кристалличности может оказаться хорошим инструментом для регулирования скорости биодegradации [73].

Аналогичные исследования нанокомпозитов на основе ПГБ были выполнены группой Лима [74]. Нанокомпозиты ПГБ/Cloisite®25A (C25A, см. табл. 8.4) были получены методом интеркаляции растворителя, и при любом содержании глины в них методом дифракции рентгеновских лучей было подтверждено наличие интеркалированных структур (рис. 8.5). Такие же результаты дала инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье, показавшая сосуществование двух фаз. Далее исследование структуры было дополнено изучением термической стабильности. Результаты термогравиметрического анализа указывают на повышение температуры начала деструкции и снижение скорости деструкции при содержании C25A в количестве 3 % (масс.). Экспериментаторы объясняют это нанодиспергированием ОММТ-слоев, которое приводит к уменьшению диффузии летучих продуктов деструкции. При более высоких содержаниях глины (свыше 6%) температура начала термической деструкции не повышается из-за термочувствительности органических модификаторов. Но скорость деструкции нанокомпозитов снижается из-за ограничения теплового движения молекулярных цепочек на границе с ОММТ.

Интерес к нанокомпозитам на основе ПГБВ обусловлен тем, что перерабатываемость и свойства ПГБВ превосходят свойства ПГБ. В 2003 году Чои с соавторами [75] описали микроструктуру, тепловые и механические свойства нанокомпозитов ПГБВ/Cloisite®30B (C30B, см. табл. 8.4) с пониженным содержанием глины. Эти материалы были приготовлены интеркаляцией в расплаве с использованием сме-

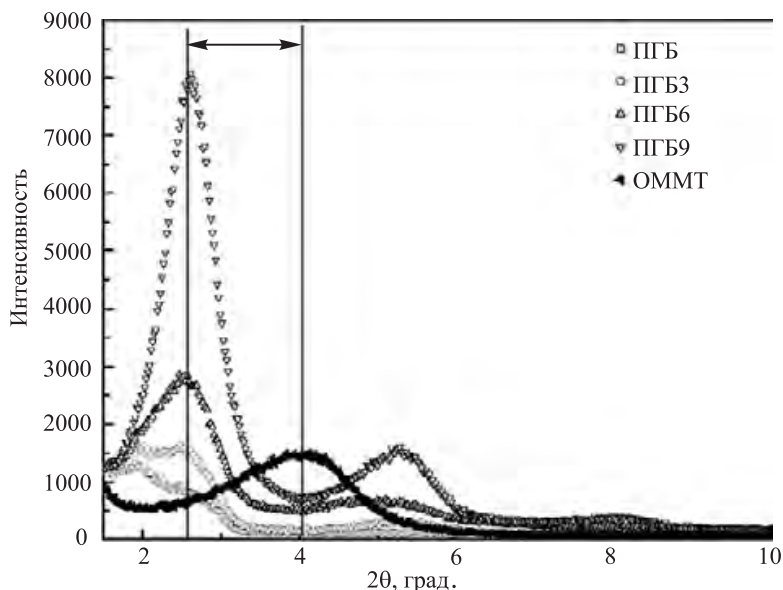


Рис. 8.5. Дифрактограммы нанокомпозитов на основе ПГБ с различным содержанием С25А (3, 6 и 9 масс. %). Взято с разрешения из [74]

сителя Брабендера. Рентгеноструктурный анализ и просвечивающая электронная микроскопия подтвердили получение интеркалированной наноструктуры. Такая структура была сформирована благодаря водородным связям между ПГБВ и гидроксильными группами органофункционализатора С30В. Нанодисперсная органоглина играла роль зародышеобразователя, что увеличивало температуру и скорость кристаллизации ПГБВ. Более того, из термограмм можно сделать вывод, что размер кристаллитов в присутствии нанодисперсных слоев уменьшается, так как температура плавления ПГБВ сдвигается в сторону более низких температур. В ходе исследования термической стабильности нанокомпозитов (термогравиметрический анализ) было обнаружено, что температура начала разложения возрастает с увеличением содержания С30В (+10 °С, 3% наполнителя). Авторы объяснили эту тенденцию нанодиспергированием силикатных слоев в матрице и сделали вывод, что хорошо диспергированная слоистая структура силикатов является эффективным барьером от проникновения кислорода и горючих газов. В конечном счете, исходя из механических свойств композита глину можно считать армирующим агентом, так как модуль Юнга значительно возрастает — от 480 до 790 МПа и выше — благодаря сильным водородным связям между фазами ПГБВ и С30В.

В работах [76, 77, 78] дан отчет об исследовании структуры и свойств нанокомпозитов ПГБВ/ОММТ. Были получены ПГБВ с 3 и 6,6% ГВ, а также ОММТ в ходе катионного обмена в водном растворе с гексаде-

цилтриметиламмонийбромидом ($\text{ММТ-N}^+(\text{Me})_3(\text{C16})$). Наноккомпозиты синтезировали методом интеркаляции в растворе путем добавления 1, 3, 5 или 10% (масс.) ОММТ к раствору ПГБВ в хлороформе. Получившаяся дисперсия была подвергнута ультразвуковой обработке. Эти условия приводят к образованию интеркалированной структуры. При содержании глины более 10% глина агрегирует.

В ходе детального исследования кристаллизации системы ПГБВ/ $\text{ММТ-N}^+(\text{Me})_3(\text{C16})$ было обнаружено, что ОММТ ведет себя как зародышеобразователь в матрице ПГБВ, увеличивая скорость нуклеации и общую скорость кристаллизации, что приводит к образованию более совершенных кристаллов [77]. При увеличении содержания ОММТ преобладающий механизм кристаллизации ПГБВ менялся от роста кристаллов к образованию зародышей кристаллизации. Эффект нуклеации органофильной глины уменьшался с ростом ее содержания. Авторы работы [76] считают, что наноразмерные слои ОММТ двойственно влияют на кристаллизацию. С одной стороны, небольшое количество ОММТ может увеличивать число зародышей кристаллизации, ускоряя процесс кристаллизации. С другой стороны, взаимодействие ОММТ и ПГБВ ограничивает движение цепей ПГА. Поэтому с увеличением содержания глины в наноккомпозитах ПГБВ/ОММТ скорость кристаллизации возрастает, в то время как относительная степень кристалличности уменьшается. Более того, в наноккомпозитах с добавками ОММТ технологические свойства ПГБВ могут быть улучшены, так как диапазон температур переработки расширяется из-за понижения температуры плавления с ростом содержания глины. При введении 3% (масс.) глины в соответствующих материалах увеличивалась прочность на растяжение [78]. При дальнейшем повышении содержания глины происходит ее агрегация, и прочность при растяжении и относительное удлинение при разрыве уменьшаются. По изменению величины модуля и температуры стеклования можно сделать вывод, что межфазный слой в наноккомпозитах был увеличен до предела благодаря ограничению сегментальной подвижности на границе фаз органика/неорганика. Таким образом было подтверждено образование интеркалированных композитов. Наконец, было исследовано биоразложение этих композитов. Результаты показали, что биоразложение в суспензии почвы с увеличением содержания ОММТ снижается, что объясняют более сильными взаимодействиями между ПГБВ и ОММТ, более низкой проницаемостью для воды, более высокой кристалличностью и антимикробными свойствами ОММТ.

Мирза с коллегами разработали новый метод получения ПГБ, функционализованного малеиновым ангидридом (МА–ПГБ), без применения растворителей [79]. Функционализация была успешно достигнута свободнорадикальной прививкой малеинового ангидрида с использованием пероксидного инициатора в процессе реакционной экструзии. Затем МА–ПГБ смешивали с С30В, чтобы функциональные группы органического модификатора прореагировали с малеиновым ангидридом [80]. Хотя межатомное расстояние в этом композите было почти таким

же, как в системе ПГБ/С30В, приготовленной смешением в расплаве, уменьшение интенсивности рентгеновских сигналов на ПЭМ-снимках свидетельствует о том, что в случае МА–ПГБ наблюдается более интенсивное расслаивание.

В свете изложенного понятно, почему большинство статей посвящено получению нанокомпозитов на основе ПГА интеркаляцией в растворе. Но каким бы ни был способ приготовления, состояние полной эксфолиации не было получено и не было четко показано. Получить эксфолированную структуру совсем не просто, это требует тщательных исследований.

Относительно недавно появились работы, посвященные установлению более точных корреляций между структурой и свойствами нанокомпозитов на основе ПГА [81]. Результаты представлены ниже.

8.3.1.3. Последние достижения

Так как конечные свойства материала сильно зависят от его структуры, сначала рассмотрим, как глина распределяется в матрице. Эти результаты получены с применением рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии и дополнены данными инновационных методов, основанных на твердофазной ЯМР-спектроскопии. Затем обсудим поведение при кристаллизации и механические свойства нанокомпозитов и их корреляцию со структурой, чтобы установить соотношение структура–свойства.

В матрицу ПГБ в ходе переработки в расплаве добавляли различные количества Cloisite®30В (С30В, см. табл. 8.4). Предполагалось, что для максимального расслаивания глины требуется высокая скорость сдвига, одновременно с этим для уменьшения деструкции ПГБ необходима низкая вязкость и короткое время переработки. Для сравнения также были получены образцы с 3% (масс.) Cloisite®Na (СNa) — немодифицированного монтмориллонита (см. табл. 8.4).

8.3.1.3.1. Характеристика структуры

Данные рентгеноструктурного анализа ПГБ и ПГБВ с ~3% (масс.) немодифицированного монтмориллонита (ПГБ/СNa и ПГБВ/СNa) не выявляют никакого дифракционного пика, тогда как образцы СNa дают пик, соответствующий $d_{001} = 12,8 \text{ \AA}$. Принимая во внимание высокую гидрофильность СNa, отсутствие дифракционного пика в композиционном материале объясняли скорее плохим качеством смешения и низким содержанием глины в большей степени, нежели эксфолиацией. Аналогичные результаты сообщались в работе [82] при изучении микрокомпозитов ПМК/СNa. Наоборот, для систем ПГБ/С30В и ПГБВ/С30В были определены дифракционные пики (рис. 8.6 и табл. 8.5). Эти пики появляются при более малых углах, чем у С30В, что позволяет предположить наличие интеркалированной структуры. Расстояние между слоями возрастает от $17,7 \text{ \AA}$ для С30В до $46,8$; $40,4$ и $39,9 \text{ \AA}$ для ПГБ/С30В, содержащих 1,0; 2,2 и 5,0% (масс.) неорганического компонента соответственно. Те же тенденции характерны для

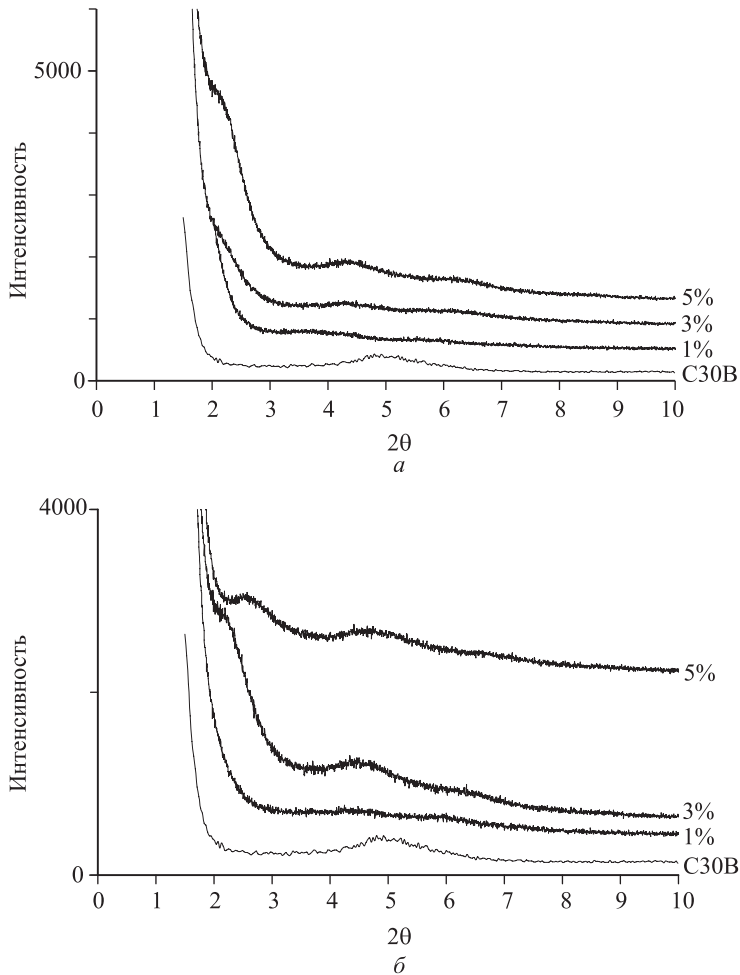


Рис. 8.6. Дифрактограммы образцов композитов ПГБ/С30В (а) и ПГБВ/С30В (б), содержащих 1, 3 и 5% (масс.) глины, и соответствующие данные малоуглового рассеяния рентгеновских лучей Cloisite®30В (С30В). Взято с разрешения из [81]

нанокомпозитов ПГБВ/С30В, хотя достигаемые межслоевые расстояния были меньше по сравнению с расстояниями в системах ПГБ/С30В. Действительно, d_{001} составляло 39,2; 38,5 и 36,6 Å для систем на основе ПГБВ с содержанием неорганического компонента, соответственно 0,6; 2,6 и 4,4%. У материалов ПГБ/С30В наблюдается существенное возрастание d_{001} , особенно при содержании глины 1% ($d_{001} = 46,8$ Å), и низкая интенсивность пиков (рис. 8.6). Это предполагает интеркаляцию полимера с, вероятно, эксфолиированными областями глины, или, по крайней мере, с небольшими тактоидами. Более того, максимум

Таблица 8.5

Межатомные расстояния (d_{001}) нанокомпозитов на основе ПГА, полученные дифракцией рентгеновских лучей

Полимер	—		ПГБ				ПГБВ			
Нанонаполнитель	CNa	C30B	CNa		C30B		CNa		C30B	
Содержание неорганического компонента, % (масс.) *	—	—	2,9	1,0	2,2	5,0	2,3	0,6	2,6	4,4
d_{001} (Å) **	12,8	17,7	—	46,8	40,4	39,9	—	39,2	38,5	36,6

Взято с разрешения из [81]

* Данные получены из термогравиметрических кривых по остатку при 600 °С.

** Для нанокомпозиционных материалов d_{001} определяли из пика d_{002} .

интенсивности интеркалированной глины постепенно возрастает с увеличением содержания глины, что указывает на некоторый рост числа и размеров тактоидов.

Полученные результаты были дополнены новым методом — твердофазной ЯМР-спектроскопией, который позволяет получать количественную информацию о структуре нанокомпозитов [83]. ЯМР-исследования приводят к определению двух коэффициентов f и ϵ — качеству и степени дисперсности глины соответственно ($f = 1$ и $\epsilon = 100\%$ для полностью эксфолиированного и полностью диспергированного наполнителя). Эти коэффициенты рассчитываются из экспериментальных времен релаксации посредством компьютерного моделирования, как уже было подтверждено на других нанокомпозитных системах [83–88]. Впервые такая технология была применена к бактериальным системам на основе сложных полиэфиров. Результаты твердофазных ЯМР-измерений (табл. 8.6) показали, что немодифицированный монтмориллонит (CNa) был агрегирован в матрице ПГА ($f = 0,1$ как в ПГБ/CNa, так и в ПГБВ/CNa). Однако большие тактоиды были более или менее распределены в матрице (ϵ равны 50% и 60% для ПГБ/CNa и ПГБВ/CNa соответственно). Для образцов на основе ПГБВ при введении глины времена релаксации уменьшались, особенно при увеличении содержания C30B. Коэффициент системы ПГБВ/C30B с содержанием 1% глины указывал на присутствие очень маленьких тактоидов ($f = 0,7$) достаточной степени нанодисперсности ($\epsilon = 45\%$). Однако при более высоких содержаниях C30B коэффициенты f и ϵ уменьшались, указывая на увеличение размеров тактоидов и ухудшение нанодисперсности ($20\% < \epsilon < 30\%$). Для систем на основе ПГБ результаты анализа более сложно поддаются трактовке, так как времена релаксации ПГБ/C30B (T_1^H ПГБ/C30B = 2,46 и 2,43 с при 1,0 и 2,2 масс. % соответственно) не показали снижения T_1^H по сравнению с чистым ПГБ (ПГБ = 2,42 с). Дальнейшие эксперименты проводились для объяснения этого наблюдения. Дисперсность глины

Таблица 8.6

Структурные характеристики полигидроксibuтирата и его сополимеров с гидроксивалератом, полученные с использованием методов дифракции рентгеновских лучей, ПЭМ и твердофазного ЯМР

	Содержание глины, % (масс.)	T_1^H, c	f	$\epsilon, \%$	Структура нанокомпозита
ПГБ	–	2,42	–	–	–
ПГБ/CNa	2,9	2,39	0,1	50	микрокомпозит
ПГБ/C30B	1,0	2,46	0,27	–	мелкие хорошо интеркалированные тактоиды
	2,2	2,43	0,4	–	мелкие хорошо интеркалированные тактоиды
	5,0	2,34	0,3	–	мелкие хорошо интеркалированные тактоиды
ПГБВ	–	2,50	–	–	–
ПГБВ/CNa	2,3	2,35	0,1	60	микрокомпозит
ПГБВ/C30B	0,6	2,32	0,7	2,42	мелкие интеркалированные тактоиды с хорошей нанодисперсностью
	2,6	2,19	0,45	0,27	мелкие интеркалированные тактоиды с плохой нанодисперсностью
	4,4	2,13	0,43	21	мелкие интеркалированные тактоиды с плохой нанодисперсностью

Взято с разрешения из [81]

может быть оценена и без учета параметра ϵ . Принимая допущение, что была достигнута гомогенная нанодисперсия, рассчитанные коэффициенты f оказались меньше 0,5, что указывает на наличие тактоидов с небольшим расслоением.

Характеристики материалов на основе ПГБ, полученные с помощью ПЭМ, согласовывались с результатами, полученными методом твердофазной ЯМР-спектроскопии, т. е. CNa не был интеркалирован, демонстрируя хорошо сложенные тактоиды из сотен пластин (рис. 8.7, а), в то время как в нанокомпозитах ПГБ/C30B присутствовали мелкие тактоиды, состоящие из 3–10 пластин с приемлемой нанодисперсностью (рис. 8.7, б, в). Это показывает более высокую совместимость C30B с ПГА по сравнению с CNa.

На подвижность, а следовательно, время релаксации цепей может влиять степень кристалличности и молекулярная масса полимера,

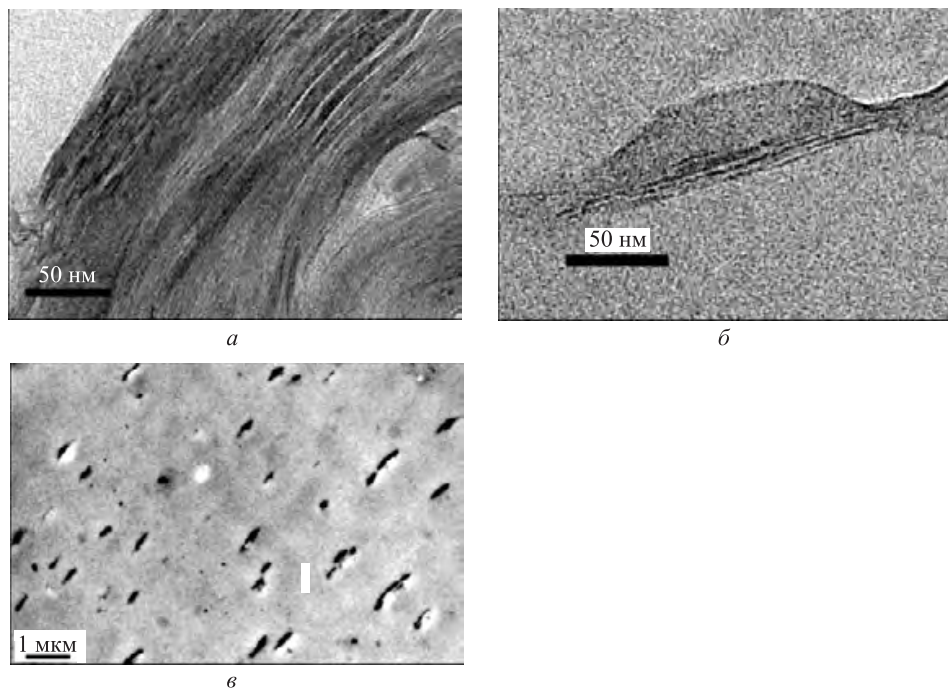


Рис. 8.7. Микрофотографии ПГБ/CNa с содержанием 2,9% (масс.) неорганической фракции (а), ПГБ/C30В с 2,2% (масс.) неорганической фракции при высоком (б) и низком (в) разрешении. Получено методом ПЭМ. Взято с разрешения из [81]

поэтому были проведены измерения этих параметров с целью определить, может ли это влияние быть значительным. Данные ДСК показали примерно одинаковые значения степени кристалличности, не зависящие от природы глины (табл. 8.7). Был сделан вывод о том, что степень кристалличности не влияет на время релаксации. Средневесовая молекулярная масса же существенно снижалась при введении С30В. Когда содержание С30В составляло около 5 масс. %, M_w снижалась на 40% и 60% для систем на основе ПГБ и ПГБВ, соответственно, по сравнению с соответствующим образом обработанным полимером. Хорошо известно, что ПГА очень чувствительны к воздействию высоких температур и разрушаются по механизму случайного разрыва цепей даже при температуре, лишь ненамного превышающей точку плавления [47–49] (см. рис. 8.2). Но в данном случае оказалось, что органический модификатор глины С30В (S–EtOH) и даже неорганические слои монтмориллонита (т. е. немодифицированный монтмориллонит CNa) усиливают разрушение ПГА. На самом деле M_w ПГА/CNa и ПГА/S–EtOH уменьшается на 20% и 32%, соответственно, по сравнению с полимером. Увеличение

Таблица 8.7
Результаты, полученные гель-проникающей хроматографией, для систем на основе ПГБ и ПГБВ

Система	ПГВ ($T_{пл} = 170\text{ }^{\circ}\text{C}$)				ПГВВ ($T_{пл} = 160\text{ }^{\circ}\text{C}$)				
	чистый ПГВ	S-EtOH	CNa	C30B	чистый ПГВ	S-EtOH	CNa	C30B	
Содержание глины, % (масс.)	–	–	2,9	1,0	2,2	5,0	–	2,6	4,4
$M_w, 10^3$	320	217	258	297	209	194	418	437	220
Показатель полидисперсности	2,1	2,1	2,0	2,0	2,0	2,2	2,2	2,1	2,4
Степень кристалличности*, %	55	–	48	51	49	53	46	40	41

Взято с разрешения из [81]

* Степень кристалличности рассчитана из соотношения экспериментальной энтальпии плавления и энтальпии, измеренной при первом сканировании (здесь не приведено), и ΔH_m при 100% кристалличности, равной 146 Дж/г, для ПГБ и ПГБВ.

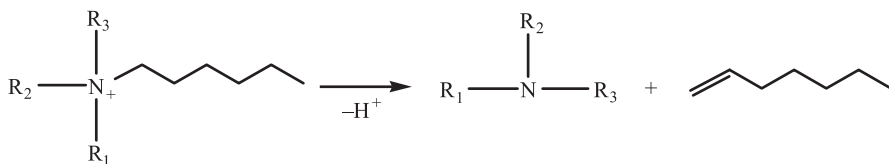


Рис. 8.8. Механизм Хоффмана (взято с разрешения из [72])

деструкции ПГА, наблюдаемое в присутствии немодифицированных слоистых силикатов, уже было описано выше. Это объясняется присутствием алюминиевых солей кислот Льюиса в неорганических слоях [89, 90] или присутствием остаточной воды, так как СNa гидрофилен. Однако до недавнего времени влияние органического модификатора на деструкцию ПГА исследовано не было [72, 91].

Было показано, что поверхностно-активные вещества, используемые для улучшения совместимости полимера и глины, сильно увеличивают деструкцию ПГА. Их разложение приводит к образованию протона в соответствии с механизмом Хоффмана (рис. 8.8), который ускоряет разрыв цепи (см. рис. 8.2) по реакции, катализируемой кислотой [72, 91].

Обычно микрокомпозиты получают при использовании немодифицированного монтмориллонита, в то время как нанокомпозиты — с применением малых количеств С30В (от 1 до 5% по массе) из-за более высокого сродства полимера и глины. Как выявил рентгеноструктурный анализ, почти все нанокомпозиты были хорошо интеркалированы, в образцах ПГБ/С30В нанодисперсность была неудовлетворительной, а в ПГБВ/С30В — довольно хорошей. Эта особенность структуры объяснялась более высокой вязкостью систем на основе ПГБВ, что приводило к лучшему расслаиванию глины. Очевидное противоречие с результатами твердофазной ЯМР-спектроскопии образцов ПГБ/С30В может быть приписано явлению дальнейшей деструкции. Процесс деструкции протекает в присутствии глины и также может влиять на время релаксации. По сравнению с ранее опубликованными исследованиями [71, 73, 75], в данном случае была получена более высокая степень интеркаляции/экслокации. Кроме того, был проведен более глубокий морфологический анализ для оценки качества нанодисперсии с глиной.

8.3.1.3.2. Свойства

При обсуждении свойств изучалось поведение при кристаллизации, оценивались механические и тепловые характеристики композитов ПБГ/глина, проводился поиск корреляций со структурой этих образцов.

Поведение при кристаллизации

Спектры рентгеновской дифракции (здесь не приводятся) систем на основе ПГБ и ПГБВ показали неизменность кристаллической структуры ПГА, что указывает на то, что введение глины не сильно влияет

на кристаллическую структуру. В то же время ДСК и оптическая микроскопия в поляризованном свете свидетельствуют о том, что глина способствует кристаллизации (рис. 8.9 и 8.10). Это явление гораздо более выражено при увеличении сродства между полимером и глиной или улучшения дисперсности наполнителя С30В. Температура кристаллизации и энтальпия возрастают от ~70 °С до 90 °С и выше и от 50 Дж/г до

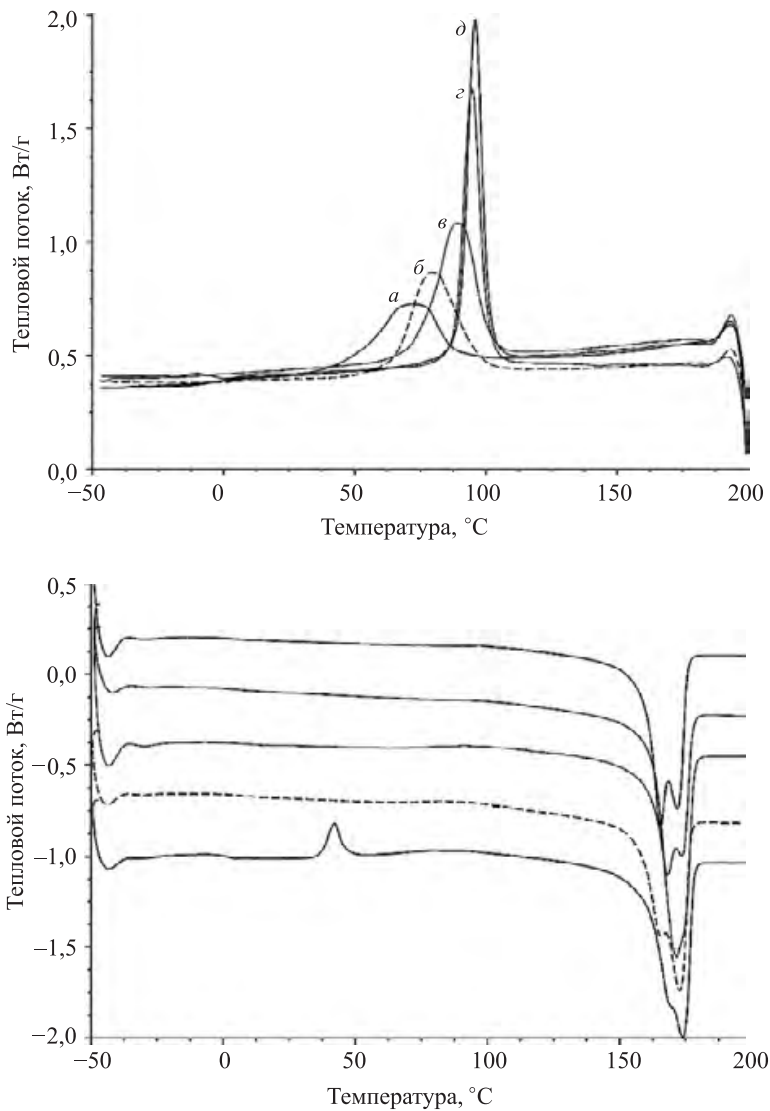


Рис. 8.9. ДСК-сканирование в режимах охлаждения (*вверху*) и повторного нагрева (*внизу*) образцов ПГБ (*а*), ПГБ/СNa (2,9 масс. %) (*б*), ПГБ/С30В (1%) (*в*), ПГБ/С30В (2,2%) (*г*) и ПГБ/С30В (5%) (*д*). Взято с разрешения из [81]

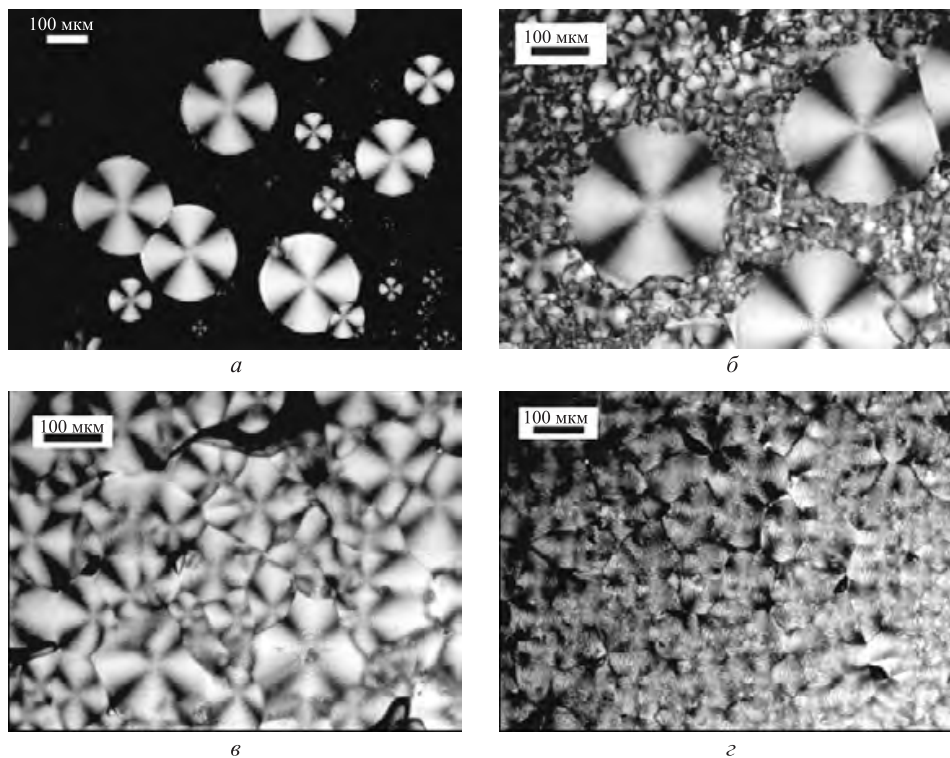


Рис. 8.10. Микрофотографии, полученные методом поляризационной оптической микроскопии, чистого ПГБ (*а*), ПГБ/С30В (1 масс. %) (*б*), ПГБ/С30В (2,2%) (*в*) и ПГБ/С30В (5%) (*г*). Взято с разрешения из [81]

60 Дж/г и выше для чистого ПГБ и композита ПГБ/С30В соответственно. В системах ПГБ/глина холодная кристаллизация больше не наблюдается. При рассмотрении кинетики кристаллизации было показано, что добавление дисперсии глины в матрицу приводит к ускорению кристаллизации и последующему более гомогенному распределению по размерам сферолитов (см. рис. 8.10). Это явление согласуется с упомянутыми выше исследованиями по добавлению зародышеобразователей к ПГБВ [92] и с результатами работ [73, 75, 93–95].

Другое примечательное явление — это появление двойной эндотермы во время плавления. Такое поведение скорее можно соотнести с хорошо известным явлением рекристаллизации [96–98], нежели бимодальностью размеров кристаллитов или несогласованным протеканием процесса кристаллизации, как было описано для систем ПГБВ/ОММТ в работе [76]. Более того, была отмечена зависимость соотношения интенсивности пиков плавления от содержания глины: интенсивность пика плавления $T_{пл}$ становится преобладающей по сравнению со вторым пи-

ком плавления при увеличении содержания глины. Это явление, свидетельствующее об уменьшении рекристаллизации при плавлении, было объяснено тормозящим влиянием пластин глины на рекристаллизацию. Аналогичное влияние пластин глины, препятствующих росту кристаллов и одновременно ускоряющих зародышеобразование, уже наблюдалось в других нанобиокомпозитных системах [94, 95].

Так как для систем на основе ПГБВ были обнаружены похожие зависимости, приведенные выше объяснения также могут быть использованы и для них.

Механические свойства

В экспериментах по изучению механических свойств при растяжении наилучший результат получен для нанокомпозитов на основе ПГА/С30В с низким содержанием глины, что объясняется более интенсивным расслаиванием и качеством диспергирования глины, как видно из структурных характеристик. Модуль Юнга во всем диапазоне измерений проявляет линейный рост с увеличением содержания С30В, возрастая на 14% и 17% для ПГБ/С30В и ПГБВ/С30В, содержащих 5% глины соответственно. Однако рост модуля Юнга сопровождался снижением удлинения при разрыве. Сначала удлинение возрастало при добавлении глины в количестве ~1% (21 и 85% для нанокомпозитов на основе ПГБ и ПГБВ по сравнению с немодифицированными полимерами), но дальнейшее увеличение содержания глины приводит к уменьшению растяжения при разрыве. Таким образом, при высоком содержании глины материал становится более хрупким. Что касается прочности на разрыв — она практически постоянна, независимо от содержания С30В, увеличиваясь примерно на 15% и 30% для ПГБ/С30В и ПГБВ/С30В соответственно. Как правило, увеличение прочности при растяжении ПГБ/С30В при небольших содержаниях глины (<3 масс. %) может быть достигнуто при обеспечении хорошей совместимости между ПГА и С30В, что приводит к образованию интеркалированных структур с мелкими тактоидами, диспергированными в матрице полимера. Дальнейшее увеличение содержания глины не приносит выигрыша, так как глина имеет тенденцию образовывать тактоиды большего размера, и нанодисперсность ухудшается. В отличие от ранее опубликованных данных [75], касающихся нанокомпозитов на основе ПГА и глины, полученных интеркаляцией из расплава, лучшие результаты достигаются при определенном балансе твердости и удлинения при разрыве. И действительно, Чои с соавторами [75] достигли более высокого значения модуля Юнга, но более низкого относительного удлинения при разрыве по сравнению с немодифицированным ПГБВ независимо от содержания глины.

Термическая стабильность

Термическую стабильность нанокомпозитов сравнивали с термостабильностью соответствующего переработанного полимера, так как было показано, что ПГА склонны к значительной деструкции при переработке (см. табл. 8.7 и [95]). Система ПГА/CNa демонстрирует значи-

тельное снижение термической стабильности, что видно по сильному смещению характеристических температур в область более низких температур, особенно в случае систем на основе ПГБ. Температуры начала разложения и максимальной скорости разложения понизились более чем на 10 °С, а температура деструкции снизилась на 26 °С. Такое поведение трактовали разрушением полимера в присутствии алюминиевых солей кислот Льюиса в неорганических слоях глины или гидрофильным характером немодифицированного монтмориллонита, как было ранее сообщено в работе [71].

Напротив, термическая стабильность нанокомпозитов на основе ПГА/С30В не менялась или даже немного повышалась по сравнению с немодифицированным ПГА (без нанонаполнителя). Температура начала деструкции, однако, снижалась при добавлении С30В, что является результатом разрушения полимера, которое ускоряется в присутствии как неорганических наполнителей [89, 90], так и органического модификатора С30В [72, 91]. В результате в присутствии С30В температурный интервал разложения расширяется. Возможно, это можно соотносить с наличием в структуре ПГА очень мелких и высокодисперсных тактоидов С30В по сравнению с большими агрегированными тактоидами в образцах ПГА/СNa. В итоге был сделан вывод, что хорошо диспергированные нанонаполнители являются эффективной преградой для тепла и диффузии летучих продуктов и таким образом противодействуют разрушению.

Рассмотренные исследования нанобиоккомпозитов на основе ПГА/глины с использованием подхода, основанного на дополнении классических методов (рентгеноструктурный анализ, ПЭМ) твердофазной ЯМР-спектроскопией, выявили неизвестные ранее особенности структуры нанобиоккомпозитов. При этом отмечена возможная деградация этих систем, которую может вызвать негативное влияние органических модификаторов глины на термическую стабильность ПГА. Это снижает эффект улучшения свойств ПГА от введения в них наноглины.

8.4. Заключение

Рассматриваемые в литературе нанобиоккомпозиты на основе полигидроксикалкоанатов, в основном ПГБ и ПГБВ, были приготовлены разными способами и с применением различных слоистых силикатных глин. О достижении состояния полной эксфолиации ни в одной из работ не говорится, хотя в нескольких исследованиях и было отмечено начало расслаивания глины. Получаются только интеркалированные и хорошо интеркалированные структуры и микрокомпозиты с использованием, соответственно, органически модифицированных или немодифицированных слоистых силикатов (глин).

Несмотря на тот факт, что полностью эксфолиированные структуры не были получены, у нанобиоккомпозитов улучшаются механические и тепловые свойства, легче протекает кристаллизация и ускоряется

биоразложение. При помощи различных методов получения характеристик материалов было изучено влияние наноглин (тип, содержание и организация в матрице) на свойства ПГА. Были установлены корреляции структура–свойства для нанобиокмпозитов ПГА/ОММТ, согласующиеся с выводами опубликованных ранее исследований по синтетическим нанокомпозитам на основе полимеров.

Отдельное внимание уделяется вопросам разрушения нанокомпозитов ПГА, поскольку эти полимеры очень чувствительны к воздействию высоких температур. Было замечено, что «потолок» улучшения свойств ПГА при добавлении хорошо диспергированных наноглин, возможно, определяется органическим модификатором глины или самим минеральным слоем глины. Недостаточная термическая стабильность ПГА существенно затрудняет разработку конкурентоспособного материала. Ученые переключают свое внимание на другие нанокомпозиты на основе ПГА, наполненные слоистыми двойными гидроксидами (СДГ) [98, 99], усами целлюлозы [100–102], и гидроксиапатит [103], который перспективен как материал для разработки живых тканей.

СДГ-структуры аналогичны слоистым силикатам глины. Состояние эксфолиации достигнуто при использовании органически модифицированных полиэтиленгликольфосфонатами (ПГФ) СДГ [98, 99]. Поведение при кристаллизации систем ПГБ/ПГФ сравнивали с поведением нанокомпозитов ПГБ/ОММТ [98, 99].

При изучении материалов на основе ПГА и целлюлозы исследования проводились с использованием латекса поли(3-гидроксиоктаноата) (ПГО) [104] как матрицы и коллоидной суспензии гидролизированных усов целлюлозы в качестве природного и биоразлагаемого наполнителя. Благодаря геометрии и высокому аспектному отношению частиц целлюлозы в композите при определенном содержании наполнителя формировалась жесткая сетка (явление перколяции), что приводило к улучшению механических свойств ПГО [100–102].

Наконец, улучшение механических свойств нанокомпозитов полимер/глина, в которых в качестве наполнителя использовали наногидроксиапатит, объясняют хорошей дисперсностью в ПГБВ неорганического наполнителя [103]. Более того, выявлена повышенная биоактивность этого материала, что актуально при лечении костей и замены костной ткани.

Экологически безопасные композиты на основе ПГА являются следующим поколением «дружественных» к окружающей среде материалов и расширяют диапазон применения полигидроксиалканоатов из-за улучшенных свойств (хрупкость, вязкость расплава, термостабильность). Таким образом, новая архитектура макромолекул и систем на основе наночастиц позволит нам в недалеком будущем преодолеть существующие узкие рамки применения этих материалов из-за высокой кристалличности, хрупкости, низкой термической стабильности и других свойств, присущих полигидроксиалканоатам.

Благодарности

Авторы благодарят Biocycle (Copersucar-Brazil), PERF-LSPES (Национальная школа Supérieure de Chimie de Lille, Франция) и GMI-IPCMS (Страсбургский институт физики и химии материалов, Франция) за техническую поддержку.

Литература

1. Narayan, R., Drivers for biodegradable/compostable plastics and role of composting in waste management and sustainable agriculture, *Orbit Journal* 1 (1), 1–9, 2001.
2. Steinbuchel, A., *Biopolymers, general aspects and special applications*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2003.
3. Avella, M., Bonadies, E., and Martuscelli, E., European current standardization for plastic packaging recoverable through composting and biodegradation, *Polymer Testing* 20 (5), 517–521, 2001.
4. Fritz, J., Link, U., and Braun, R., Environmental impacts of biobased/biodegradable packaging, *Starch* 53 (3–4), 105–109, 2001.
5. Karlsson, S. and Albertsson, A.-C., Biodegradable polymers and environmental interaction, *Polymer Engineering and Science* 38 (8), 1251–1253, 1998.
6. Kaplan, D.L., Mayer, J.M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A.L., and Stenhouse, P., Fundamentals of biodegradable polymers, in *Biodegradable Polymers and Packaging*, Ching, C., Kaplan, D.L., and Thomas, E.L., Lancaster, PA, Technomic, 1993, pp. 1–42.
7. Van de Velde, K. and Kiekens, P., Biopolymers: Overview of several properties and consequences on their applications, *Polymer Testing* 21 (4), 433–442, 2002.
8. Rouilly, A. and Rigal, L., Agro-materials: A bibliographic review, *Journal of Macromolecular Science—Part C. Polymer Reviews* C42 (4), 441–479, 2002.
9. Chandra, R. and Rustgi, R., Biodegradable polymers, *Progress in Polymer Science* 23 (7), 1273–1335, 1998.
10. Averous, L., Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A review, *Journal of Macromolecular Science—Polymer Reviews* C44 (3), 231–274, 2004.
11. Sinha Ray, S. and Okamoto, M., Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing, *Progress in Polymer Science (Oxford)* 28 (11), 1539–1641, 2003.
12. Messersmith, P.B. and Giannelis, E.P., Synthesis and barrier properties of polycaprolactone-layered silicate nanocomposites, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* 33 (7), 1047–1057, 1995.

13. Pantoustier, N., Alexandre, M., Degee, P., Calberg, C., Jerome, R., Henrist, C., Cloots, R., Rulmont, A., and Dubois, P., Poly(-caprolactone) layered silicate nanocomposites: Effect of clay surface modifiers on the melt intercalation process, *e-Polymers* no. 009, 2001.
14. Pantoustier, N., Lepoittevin, B., Alexandre, M., Kubies, D., Calberg, C., Jerome, R., and Dubois, P., Biodegradable polyester layered silicate nanocomposites based on poly(-caprolactone), *Polymer Engineering and Science* 42 (9), 1928–1937, 2002.
15. Lepoittevin, B., Pantoustier, N., Alexandre, M., Calberg, C., Jerome, R., and Dubois, P., Layered silicate/polyester nanohybrids by controlled ring-opening polymerization, *Macromolecular Symposia* 183, 95–102, 2002.
16. Pantoustier, N., Alexandre, M., Degee, P., Kubies, D., Jerome, R., Henrist, C., Rulmont, A., and Dubois, P., Intercalative polymerization of cyclic esters in layered silicates: Thermal vs. catalytic activation, *Composite Interfaces* 10 (4), 423–433, 2003.
17. Lepoittevin, B., Pantoustier, N., Devalckenaere, M., Alexandre, M., Calberg, C., Jerome, R., Henrist, C., Rulmont, A., and Dubois, P., Polymer/layered silicate nanocomposites by combined intercalative polymerization and melt intercalation: A masterbatch process, *Polymer* 44 (7), 2033–2040, 2003.
18. Ogata, N., Jimenez, G., Kawai, H., and Ogihara, T., Structure and thermal/ mechanical properties of poly(L-lactide)-clay blend, *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 35 (2), 389–396, 1997.
19. Paul, M.-A., Alexandre, M., Degee, P., Calberg, C., Jerome, R., and Dubois, P., Exfoliated polylactide/clay nanocomposites by in-situ coordination-insertion polymerization, *Macromolecular Rapid Communications* 24 (9), 561–566, 2003.
20. Paul, M.-A., Alexandre, M., Degee, P., Henrist, C., Rulmont, A., and Dubois, P., New nanocomposite materials based on plasticized poly(L-lactide) and organomodified montmorillonites: Thermal and morphological study, *Polymer* 44 (2), 443–450, 2003.
21. Pluta, M., Paul, M.-A., Alexandre, M., and Dubois, P., Plasticized polylactide/clay nanocomposites. I. The role of filler content and its surface organo-modification on the physico-chemical properties, *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 44 (2), 299–311, 2006.
22. Pluta, M., Paul, M.-A., Alexandre, M., and Dubois, P., Plasticized polylactide/clay nanocomposites. II. The effect of aging on structure and properties in relation to the filler content and the nature of its organo-modification, *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 44 (2), 312–325, 2006.
23. Sinha Ray, S., Yamada, K., Okamoto, M., and Ueda, K., Polylactide-layered silicate nanocomposite: A novel biodegradable material, *Nano Letters* 2 (10), 1093–1096, 2002.

24. Maiti, P., Yamada, K., Okamoto, M., Ueda, K., and Okamoto, K., New polylactide/layered silicate nanocomposites: Role of organoclays, *Chemistry of Materials* 14 (11), 4654–4661, 2002.
25. Sinha Ray, S., Yamada, K., Okamoto, M., Fujimoto, Y., Ogami, A., and Ueda, K., New polylactide/layered silicate nanocomposites. 5. Designing of materials with desired properties, *Polymer* 44 (21), 6633–6646, 2003.
26. Sinha Ray, S. and Okamoto, M., Biodegradable polylactide and its nanocomposites: Opening a new dimension for plastics and composites, *Macromolecular Rapid Communications* 24 (14), 815–840, 2003.
27. Park, H.-M., Li, X., Jin, C.-Z., Park, C.-Y., Cho, W.-J., and Ha, C.-S., Preparation and properties of biodegradable thermoplastic starch/clay hybrids, *Macromolecular Materials and Engineering* 287 (8), 553–558, 2002.
28. Park, H.-M., Lee, W.-K., Park, C.-Y., Cho, W.-J., and Ha, C.-S., Environmentally friendly polymer hybrids—Part I. Mechanical, thermal, and barrier properties of thermoplastic starch/clay nanocomposites, *Journal of Material Science* 38 (5), 909–915, 2003.
29. Dean, K., Yu, L., and Wu, D.Y., Preparation and characterization of melt-extruded thermoplastic starch/clay nanocomposites, *Composites Science and Technology* 67 (3–4), 413–421, 2007.
30. Chivrac, F., Pollet, E., and Averous, L., New approach to elaborate exfoliated starch-based nanobiocomposites, *Biomacromolecules* 9 (3), 896–900, 2008.
31. Lemoigne, M., Products of dehydration and of polymerization of β -hydroxybutyric acid, *Bulletin de la Societe de Chimie Biologique* 8, 770–782, 1926.
32. Lenz, R.W. and Marchessault, R.H., Bacterial polyesters: Biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology, *Biomacromolecules* 6 (1), 1–8, 2005.
33. Doi, Y., *Microbial polyesters* John Wiley & Sons, New York, 1990.
34. Madison, L.L. and Huisman, G.W., Metabolic engineering of poly(3-hydroxyalkanoates): From DNA to plastic, *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63 (1), 21–53, 1999.
35. Zinn, M., Witholt, B., and Egli, T., Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate, *Advanced Drug Delivery Reviews* 53 (1), 5–21, 2001.
36. Reddy, C.S.K., Ghai, R., Rashmi, and Kalia, V.C., Polyhydroxyalkanoates: An overview, *Bioresource Technology* 87 (2), 137–146, 2003.
37. Valentin, H.E., Broyles, D.L., Casagrande, L.A., Colburn, S.M., Creeley, W.L., DeLaquil, P.A., Felton, H.M., Gonzalez, K.A., Houmiel, K.H., Lutke, K., Mahadeo, D.A., Mitsky, T.A., Padgett, S.R., Reiser, S.E., Slater, S., Stark, D.M., Stock, R.T., Stone, D.A., Taylor, N.B., Thorne, G.M., Tran, M., and Gruys, K.J., PHA production, from bacteria to plants, *International Journal of Biological Macromolecules* 25 (1–3), 303–306, 1999.

38. Poirier, Y., Polyhydroxyalkanoate synthesis in plants as a tool for biotechnology and basic studies of lipid metabolism, *Progress in Lipid Research* 41 (2), 131–155, 2002.
39. Hori, Y., Suzuki, M., Yamaguchi, A., and Nishishita, T., Ring-opening polymerization of optically active β -butyrolactone using distannoxane catalysts: Synthesis of high-molecular-weight poly(3-hydroxybutyrate), *Macromolecules* 26 (20), 5533, 1993.
40. Hori, Y., Takahashi, Y., Yamaguchi, A., and Nishishita, T., Ring-opening copolymerization of optically active β -butyrolactone with several lactones catalyzed by distannoxane complexes: Synthesis of new biodegradable polyesters, *Macromolecules* 26 (16), 4388, 1993.
41. Hori, Y. and Hagiwara, T., Ring-opening polymerisation of β -butyrolactone catalysed by distannoxane complexes: Study of the mechanism, *International Journal of Biological Macromolecules* 25 (1–3), 235–247, 1996.
42. Kobayashi, T., Yamaguchi, A., Hagiwara, T., and Hori, Y., Synthesis of poly(3-hydroxyalkanoate)s by ring-opening copolymerization of (R)- β -butyrolactone with other four-membered lactones using a distannoxane complex as a catalyst, *Polymer* 36 (24), 4707–4710, 1995.
43. Nobes, G.A.R., Kazlauskas, R.J., and Marchessault, R.H., Lipase-catalyzed ringopening polymerization of lactones: A novel route to poly(hydroxyalkanoate)s, *Macromolecules* 29 (14), 4829, 1996.
44. Juzwa, M. and Jedlinski, Z., Novel synthesis of poly(3-hydroxybutyrate), *Macromolecules* 39 (13), 4627, 2006.
45. Asrar, J., Mitsky, T.A., and Shah, D.T., United States US6091002, 2000, Polyhydroxyalkanoates of narrow molecular weight distribution prepared in transgenic plants. 2000-07-18.
46. Asrar, J., Mitsky, T.A., and Shah, D.T., United States US6228623, 2001, Polyhydroxyalkanoates of narrow molecular weight distribution prepared in transgenic plants. 2001-05-08.
47. Grassie, N., Murray, E.J., and Holmes, P.A., Thermal degradation of poly(-(D)- β -hydroxybutyric acid): Part 3–The reaction mechanism, *Polymer Degradation and Stability* 6 (3), 127–134, 1984.
48. Grassie, N., Murray, E.J., and Holmes, P.A., Thermal degradation of poly(-(D)- β -hydroxybutyric acid): Part 1–Identification and quantitative analysis of products, *Polymer Degradation and Stability* 6 (1), 47–61, 1984.
49. Grassie, N., Murray, E.J., and Holmes, P.A., Thermal degradation of poly(-(D)- β -hydroxybutyric acid): Part 2–Changes in molecular weight, *Polymer Degradation and Stability* 6 (2), 95–103, 1984.
50. Kunioka, M. and Doi, Y., Thermal degradation of microbial copolyesters. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate), *Macromolecules* 23 (7), 1933–1936, 1990.

51. Aoyagi, Y., Yamashita, K., and Doi, Y., Thermal degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly[ε-caprolactone], and poly[(S)-lactide], *Polymer Degradation and Stability* 76 (1), 53–59, 2002.
52. Li, S.-D., He, J.-D., Yu, P.H., and Cheung, M.K., Thermal degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) as studied by TG, TG-FTIR, and Py-GC/MS, *Journal of Applied Polymer Science* 89 (6), 1530–1536, 2003.
53. Carrasco, F., Dionisi, D., Martinelli, A., and Majone, M., Thermal stability of polyhydroxyalkanoates, *Journal of Applied Polymer Science* 100 (3), 2111–2121, 2006.
54. Abe, H., Thermal degradation of environmentally degradable poly(hydroxyalkanoic acid)s, *Macromolecular Bioscience* 6 (7), 469–486, 2006.
55. Renstad, R., Karlsson, S., and Albertsson, A.-C., Influence of processing parameters on the molecular weight and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *Polymer Degradation and Stability* 57 (3), 331–338, 1997.
56. Melik, D.H. and Schechtman, L.A., Biopolyester melt behavior by torque rheometry, *Polymer Engineering & Science* 35 (22), 1795–1806, 1995.
57. Ramkumar, D.H.S. and Bhattacharya, M., Steady shear and dynamic properties of biodegradable polyesters, *Polymer Engineering and Science* 38 (9), 1426–1435, 1998.
58. Billingham, N.C., Henman, T.J., and Holmes, P.A., Degradation and stabilization of polyesters of biological and synthetic origin, in *Developments in Polymer Degradation* Elsevier Applied Science, London, 1987, pp. 81–121.
59. Amass, W., Amass, A., and Tighe, B., A review of biodegradable polymers: Uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies, *Polymer International* 47 (2), 89–144, 1998.
60. Shogren, R., Water vapor permeability of biodegradable polymers, *Journal of Environmental Polymer Degradation* 5 (2), 91–95, 1997.
61. Kotnis, M.A., O'Brien, G.S., and Willett, J.L., Processing and mechanical properties of biodegradable poly(hydroxybutyrate-co-valerate)-starch compositions, *Journal of Environmental Polymer Degradation* 3 (2), 97–105, 1995.
62. Shogren, R.L., Poly(ethylene oxide)-coated granular starch-poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) composite materials, *Journal of Environmental Polymer Degradation* 3 (2), 75–80, 1995.
63. El-Hadi, A., Schnabel, R., Straube, E., Muller, G., and Henning, S., Correlation between degree of crystallinity, morphology, glass temperature, mechanical properties and biodegradation of poly(3-hydroxyalkanoate) PHAs and their blends, *Polymer Testing* 21 (6), 665–674, 2002.

64. Parikh, M., Gross, R.A., and McCarthy, S.P., The influence of injection molding conditions on biodegradable polymers, *Journal of Injection Molding Technology* 2 (1), 30, 1998.
65. Dos Santos Rosa, D., Calil, M.R., Fassina Guedes, C.d.G., and Rodrigues, T.C., Biodegradability of thermally aged PHB, PHB-V, and PCL in soil compostage, *Journal of Polymers and the Environment* 12 (4), 239–245, 2004.
66. Chiellini, E. and Solaro, R., Biodegradable polymeric materials, *Advanced Materials* 8 (4), 305–313, 1996.
67. Velho, L. and Velho, P., 2006. Innovation in resource-based technology clusters: Investigating the lateral migration thesis—The development of a sugar-based plastic in Brazil. Report of the Centre for Poverty, Employment and Growth. Published by the Human Science Research Council, Pretoria (South Africa), February 2006.
68. Noda, I., Green, P.R., Satkowski, M.M., and Schechtman, L.A., Preparation and properties of a novel class of polyhydroxyalkanoate copolymers, *Biomacromolecules* 6 (2), 580–586, 2005.
69. Philip, S., Keshavarz, T., and Roy, I., Polyhydroxyalkanoates: Biodegradable polymers with a range of applications, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 82 (3), 233–247, 2007.
70. Williams, S.F., Martin, D.P., Horowitz, D.M., and Peoples, O.P., PHA applications: addressing the price performance issue I. Tissue engineering, *International Journal of Biological Macromolecules* 25 (1–3), 111–121, 1999.
71. Maiti, P., Batt, C.A., and Giannelis, E.P., Renewable plastics: Synthesis and properties of PHB nanocomposites, *Polymeric Materials Science and Engineering* 88, 58–59, 2003.
72. Hablot, E., Bordes, P., Pollet, E., and Averous, L., Thermal and thermo-mechanical degradation of PHB-based multiphase systems, *Polymer Degradation and Stability* 93 (2), 413–421, 2008.
73. Maiti, P., Batt, C.A., and Giannelis, E.P., New biodegradable polyhydroxybutyrate/layered silicate nanocomposites, *Biomacromolecules* 8 (11), 3393–3400, 2007.
74. Lim, S.T., Hyun, Y.H., Lee, C.H., and Choi, H.J., Preparation and characterization of microbial biodegradable poly(3-hydroxybutyrate)/organoclay nanocomposite, *Journal of Materials Science Letters* 22 (4), 299–302, 2003.
75. Choi, W.M., Kim, T.W., Park, O.O., Chang, Y.K., and Lee, J.W., Preparation and characterization of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)-organoclay nanocomposites, *Journal of Applied Polymer Science* 90 (2), 525–529, 2003.
76. Wang, S., Song, C., Chen, G., Guo, T., Liu, J., Zhang, B., and Takeuchi, S., Characteristics and biodegradation properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/organophilic montmorillonite (PHBV/OMMT) nanocomposite, *Polymer Degradation and Stability* 87 (1), 69–76, 2005.

77. Chen, G.X., Hao, G.J., Guo, T.Y., Song, M.D., and Zhang, B.H., Crystallization kinetics of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/clay nanocomposites, *Journal of Applied Polymer Science* 93 (2), 655–661, 2004.
78. Chen, G.X., Hao, G.J., Guo, T.Y., Song, M.D., and Zhang, B.H., Structure and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV)/clay nanocomposites, *Journal of Materials Science Letters* 21 (20), 1587–1589, 2002.
79. Misra, M., Desai, S.M., Mohanty, A.K., and Drzal, L.T., Novel solvent-free method for functionalization of polyhydroxyalkanoates: Synthesis and characterizations, in *Proceedings of the 62nd Annual Technical Conference of the Society of Plastics Engineers*. Vol. 2, 2442–2446, 2004.
80. Drzal, L.T., Misra, M., and Mohanty, A.K., Sustainable biodegradable green nanocomposites from bacterial bioplastic for automotive applications, in *U.S. EPA STAR Progress Review Workshop—Nanotechnology and the Environment II*, Report number EPA/600/R-05/089; pp. 23–25, 2005.
81. Bordes, P., Pollet, E., Bourbigot, S., and Averous, L., Structure and properties of PHA/clay nano-biocomposites prepared by melt intercalation, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 209 (14), 1473–1484, 2008.
82. Pluta, M., Galeski, A., Alexandre, M., Paul, M.-A., and Dubois, P., Polylactide/ montmorillonite nanocomposites and microcomposites prepared by melt blending: Structure and some physical properties, *Journal of Applied Polymer Science* 86 (6), 1497–1506, 2002.
83. Bourbigot, S., Vanderhart, D.L., Gilman, J.W., Awad, W.H., Davis, R.D., Morgan, A.B., and Wilkie, C.A., Investigation of nanodispersion in polystyrene-montmorillonite nanocomposites by solid-state NMR, *Journal of Polymer Science—Part B Polymer Physics* 41 (24), 3188, 2003.
84. Vanderhart, D.L., Asano, A., and Gilman, J.W., Solid-state NMR investigation of paramagnetic nylon-6 clay nanocomposites. 1. Crystallinity, morphology, and the direct influence of Fe³⁺ on nuclear spins, *Chemistry of Materials* 13 (10), 3781–3795, 2001.
85. Vanderhart, D.L., Asano, A., and Gilman, J.W., NMR measurements related to clay-dispersion quality and organic-modifier stability in nylon-6/clay nanocomposites, *Macromolecules* 34 (12), 3819–3822, 2001.
86. Vanderhart, D.L., Asano, A., and Gilman, J.W., Solid-state NMR investigation of paramagnetic nylon-6 clay nanocomposites. 2. Measurement of clay dispersion, crystal stratification, and stability of organic modifiers, *Chemistry of Materials* 13 (10), 3796–3809, 2001.
87. Bourbigot, S., Vanderhart, D.L., Gilman, J.W., Bellayer, S., Stretz, H., and Paul, D.R., Solid state NMR characterization and flammability of styrene-acrylonitrile copolymer montmorillonite nanocomposite, *Polymer* 45 (22), 7627–7638, 2004.

88. Bourbigot, S., Fontaine, G., Bellayer, S., and Delobel, R., Processing and nanodispersion: A quantitative approach for polylactide nanocomposite, *Polymer Testing* 27 (1), 2–10, 2008.
89. Xie, W., Gao, Z., Pan, W.-P., Hunter, D., Singh, A., and Vaia, R., Thermal degradation chemistry of alkyl quaternary ammonium montmorillonite, *Chemistry of Materials* 13 (9), 2979–2990, 2001.
90. Pandey, J.K., Kumar, A.P., Misra, M., Mohanty, A.K., Drzal, L.T., and Singh, R.P., Recent advances in biodegradable nanocomposites, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 5 (4), 497–526, 2005.
91. Bordes, P., Hablot, E., Pollet, E., and Averous, L., Effect of clay organomodifiers on polyhydroxyalkanoates degradation, *Polymer Degradation and Stability*, 94 (5), 789–796, 2009.
92. Liu, W.J., Yang, H.L., Wang, Z., Dong, L.S., and Liu, J.J., Effect of nucleating agents on the crystallization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *Journal of Applied Polymer Science* 86 (9), 2145–2152, 2002.
93. Nam, J.Y., Sinha Ray, S., and Okamoto, M., Crystallization behavior and morphology of biodegradable polylactide/layered silicate nanocomposite, *Macromolecules* 36 (19), 7126–7131, 2003.
94. Di Maio, E., Iannace, S., Sorrentino, L., and Nicolais, L., Isothermal crystallization in PCL/clay nanocomposites investigated with thermal and rheometric methods, *Polymer* 45 (26), 8893–8900, 2004.
95. Chivrac, F., Pollet, E., and Averous, L., Nonisothermal crystallization behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate)/clay nanobiocomposites, *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 45 (13), 1503–1510, 2007.
96. Renstad, R., Karlsson, S., Albertsson, A.-C., Werner, P.-E., and Westdahl, M., Influence of processing parameters on the mass crystallinity of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *Polymer International* 43 (3), 201–209, 1997.
97. Fujita, M., Sawayanagi, T., Tanaka, T., Iwata, T., Abe, H., Doi, Y., Ito, K., and Fujisawa, T., Synchrotron SAXS and WAXS studies on changes in structural and thermal properties of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] single crystals during heating, *Macromolecular Rapid Communications* 26 (9), 678–683, 2005.
98. Hsu, S.-F., Wu, T.-M., and Liao, C.-S., Nonisothermal crystallization behavior and crystalline structure of poly(3-hydroxybutyrate)/layered double hydroxide nanocomposites, *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 45 (9), 995–1002, 2007.
99. Hsu, S.-F., Wu, T.-M., and Liao, C.-S., Isothermal crystallization kinetics of poly(3-hydroxybutyrate)/layered double hydroxide nanocomposites, *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 44 (23), 3337–3347, 2006.
100. Dufresne, A., Kellerhals, M.B., and Witholt, B., Transcrystallization in Mcl- PHAs/cellulose whiskers composites, *Macromolecules* 32 (22), 7396–7401, 1999.

101. Dubief, D., Samain, E., and Dufresne, A., Polysaccharide microcrystals reinforced amorphous poly(β -hydroxyoctanoate) nanocomposite materials, *Macromolecules* 32 (18), 5765–5771, 1999.
102. Dufresne, A., Dynamic mechanical analysis of the interphase in bacterial polyester/cellulose whiskers natural composites, *Composite Interfaces* 7 (1), 53–67, 2000.
103. Chen, D.Z., Tang, C.Y., Chan, K.C., Tsui, C.P., Yu, P.H.F., Leung, M.C.P., and Uskokovic, P.S., Dynamic mechanical properties and *in vitro* bioactivity of PHBV/HA nanocomposite, *Composites Science and Technology* 67 (7–8), 1617–1626, 2007.
104. Dufresne, A. and Samain, E., Preparation and characterization of a poly(β -hydroxyoctanoate) latex produced by *Pseudomonas oleovorans*, *Macromolecules* 31 (19), 6426–6433, 1998.
105. Khanna, S. and Srivastava, A.K., Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates, *Process Biochemistry* 40 (2), 607–619, 2005.
106. Lagaly, G., From clay mineral crystals to colloidal clay mineral dispersions, in *Coagulation and flocculation—Theory and applications*, Dobias, B. Dekker, New York, 1993, pp. 427.

РЕДУКЦИОНИСТСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ ЭЛАСТИНА

*Антонио Марио Тамбурро, Бриджиди Бочикьо
и Антониетта Пепе*

Университет Базиликаты, Италия

9.1. Молекулярная структура эластина

Эластин отвечает за упругость тканей легких, кожи и сосудов. Нерастворимость этого белка связана с наличием в его структуре перекрестных сшивок, которые обеспечивают его прочность. Эластин почти не растворяется в обычных растворителях, так что для его исследования нельзя использовать классические спектральные методы анализа. Для изучения свойств этого белка применяют его растворимые производные, такие как α -эластин или κ -эластин, либо короткие синтетические пептиды, соответствующие повторяющимся последовательностям эластина. В некоторых исследованиях также были изучены пептиды, содержащие полимерные повторы с разными молекулярными массами [1, 2].

Двигаясь в этом направлении, две исследовательские группы (под руководством Юрри в США и Тамбурро в Италии) осуществили химический синтез серии полипептидов, таких как $(VPGVG)_n$ [3, 4], $(VPGG)_n$ [5], $(VGVAPG)_n$ [6] и $(VPG)_n$ [7], а также $(VGG)_n$ и $(LGG)_n$ [8], $(VGGVG)_n$ [9], $(VGG LG)_n$ [10] и $(LGGVG)_n$ [11]. Дело в том, что эти пептиды могут быть (и, как выяснилось, на самом деле являются) полезными *моделями* для изучения структуры белка в целом. Причина заключается в «простом» допущении: белок может рассматриваться в качестве повторяющейся полипептидной последовательности. Конечно, применять этот подход следует с осторожностью, поскольку можно упустить из виду многие структурные особенности. Однако в качестве разумного допущения такой подход оказывается весьма эффективным.

В рамках этого подхода было создано две модели структуры эластина, общей чертой которых являются β -повороты типа II [12, 13]. Модель Юрри, созданная, главным образом, для полимера $(VPGVG)_n$, представляет собой регулярный ряд β -поворотов типа II с последовательностью PG на вершине изгиба [14]. Эта β -спираль рассматривается в качестве динамической структуры, осуществляющей либрационные (колебательные) движения в сегменте GV за пределами зоны β -поворотов [15].

Такое движение, в свою очередь, приводит к повышению энтропии всей системы, что объясняет эластичность полимера $(VPGVG)_n$ и, по аналогии, эластичность самого эластина [16]. При действии силы растяжения колебательные движения ослабевают, следовательно, энтропия снижается, но спонтанно увеличивается вновь при прекращении действия приложенной силы. Хотя в определенных участках последовательности эластина «колебательные» движения, без сомнения, осуществляются, некоторые важные обстоятельства не согласуются с β -спиральным строением молекулы. Во-первых, модель β -спирали была предложена на основании результатов, полученных для полимера $(VPGVG)_n$, однако свежие спектральные данные не подтверждают наличия в его структуре β -спирали [17]. Во-вторых, методы молекулярно-динамического моделирования показывают, что β -спираль представляет собой очень неустойчивую переходную структуру [18].

Группа Тамбурро основывала свои исследования на изучении богатых глицином повторов, таких как XGG и GXGGZ, в последовательности эластина [19, 20]. Предполагается, что в повторяющейся последовательности GXGGZ ($X, Z = V, L$) могут встречаться отдельные редкие β -повороты II типа. В вершинах этих изгибов могут находиться последовательности XG или GG, а первый и четвертый остатки глицина в последовательности или остатки X и Z связаны водородной связью $4 \rightarrow 1$. Витки достаточно лабильны и, следовательно, могут переходить один в другой, т. е. β -повороты могут скользить вдоль полимерной цепи (рис. 9.1). Экспериментальное подтверждение данной модели основано, главным образом, на ЯМР-исследовании пентапептидов, декапептидов и полипентапептидов, содержащих указанную последовательность GXGGZ [10, 21]. Наиболее важные данные были получены при изучении температурной зависимости химических сдвигов амидных

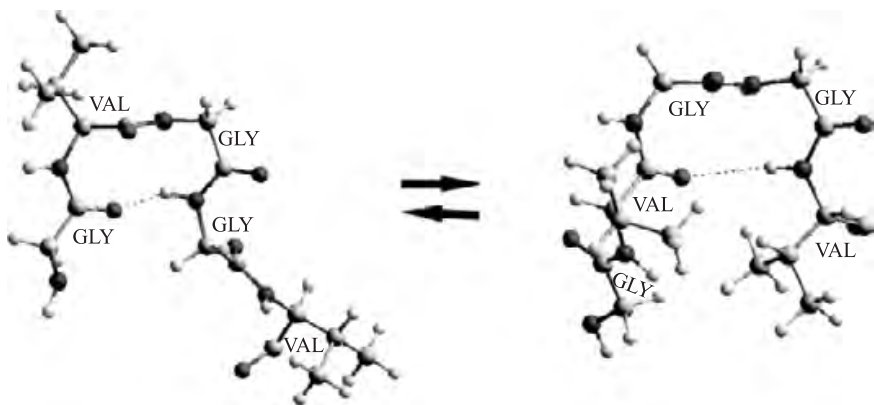
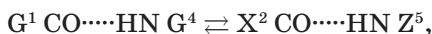


Рис. 9.1. Молекулярная модель, отражающая «скольжение» β -поворотов в последовательности эластина GVGGV. Поворот с последовательностью VG на изгибе (слева) находится в динамическом «равновесии скольжения» с поворотом, имеющим на изгибе последовательность GG (справа)

протонов. При повышении температуры химический сдвиг смещается в высокочастотную область. Если амидный протон участвует в образовании водородной связи, изменение химического сдвига с изменением температуры уменьшается. Поэтому температурный коэффициент является мерой прочности водородных связей.

Низкие значения температурных коэффициентов (меньше $-4,0$ ppb/K) для амидных протонов обычно свидетельствуют о наличии прочных водородных связей. В случае β -поворотов, образованных четырьмя последовательными остатками в пептидной цепи, низкие значения температурных коэффициентов объясняются наличием водородной связи между амидным протоном четвертого остатка и карбонильной группой первого остатка β -поворота. Значение температурного коэффициента в диапазоне между $4,0$ и $5,0$ обычно связывают с наличием очень слабых водородных связей или с установлением равновесия между поворотом и другими конформациями, не имеющими водородных связей.

В случае пентапептида $G^1X^2G^3G^4Z^5$ температурные коэффициенты для двух последовательных амидных протонов G^4 и Z^5 находятся в диапазоне от $4,5$ до $4,8$ ppb/K, что объясняется существованием равновесия между двумя β -поворотами типа II



соответствующего «скольжению» β -поворотов вдоль полипептидной цепи.

Наконец, тот факт, что другие остатки, такие как G^3 , тоже имеют сравнительно низкий температурный коэффициент ($\Delta\delta/\Delta T = -4,6$ ppb/K), также подтверждает наличие сложной подвижной системы лабильных водородных связей, изменяющих свое взаимное расположение вдоль последовательности и обеспечивающих подвижное равновесие между свернутой и развернутой формами цепи. Такая возможность скольжения способствует повышению энтропии системы, что вносит свой вклад в обеспечение эластичности белка. Модель «скользящего β -поворота», предложенная для повторяющейся полипептидной последовательности эластина, подтверждается данными для гидрофобных доменов тропоэластина [22] (см. ниже). Наши результаты включают и детальное описание (на уровне атомного разрешения) структуры эластина, и согласованный молекулярный механизм эластичности этого белка [23]. Необходимо подчеркнуть, что в соответствии с данными ЯМР и молекулярно-динамического моделирования β -повороты характеризуются способностью к скольжению, т. е. они переходят друг в друга вдоль всей последовательности цепи. Это явление рассматривается в качестве одного из возможных источников энтропии эластина в релаксированном состоянии [23]. Недавно было показано, что для упругих фрагментов тинтина, как и для эластина и ламприна, характерно равновесие между полипролиновой спиралью (РПИ), β -поворотами и участками с неупорядоченной конформацией [25].

9.2. Редукционистский подход

Редукционистский подход в науке применяется довольно широко. Он заключается в изучении сложной системы путем выделения отдельного компонента с последующим восстановлением всей системы на основании предположения, что взаимодействие отдельных частей не сильно меняет систему в целом. В химии принято системой называть сообщество разных молекул. В нашем случае этот подход применяется к единственной макромолекуле, которую «правильно» разрезают на составные части, а затем собирают обратно, как пазл. В случае тропоэластина редукционистский подход основан на том факте, что ген тропоэластина имеет доменную организацию с регулярным чередованием одних доменов, определяющих образование поперечных сшивок, с другими доменами, кодирующими гидрофобные участки полипептидной цепи, возможно, ответственные за эластичность белка (рис. 9.2) [26].

Гидрофобные домены отвечают за эластичность белка и содержат множество остатков глицина, расположенных в N-концевой и C-концевой последовательностях. В этих доменах также содержится много остатков пролина, сосредоточенных, главным образом, в крупных экзонах в центральной части молекулы. Домены, ответственные за образование поперечных сшивок, чередующиеся с гидрофобными доменами, содержат участки богатые аланином (КА-домены, центральный и C-концевой участок) и участки богатые пролином (КР-домены, в основном сосредоточенные в N-концевом участке последовательности). Три других участка белка обладают особым строением и имеют особые функции: экзон 1 кодирует сигнальный пептид, состоящий из 26 аминокислотных остатков и необходимый для внеклеточного транспорта

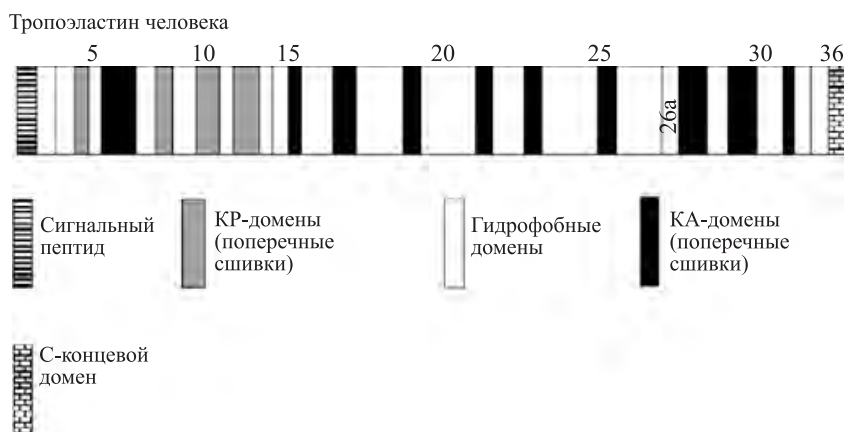


Рис. 9.2. Доменная структура, кодирующаяся геном тропоэластина человека. В гене тропоэластина человека отсутствуют экзоны 34 и 34, наличествующие в генах других млекопитающих. Экзоны 10, 11, 13, 14, 15, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 32 и 33 подвергаются альтернативному сплайсингу. Адаптировано из [22] с разрешения Американского химического общества

белка; гидрофобный экзон 26а экспрессируется редко, и его функция остается неизвестной; экзон 36 кодирует последовательность, необходимую для взаимодействия с другими эластичными фибриллярными белками [27].

Специфическая доменная структура тропоэластина навела нас на мысль изучить домены этого белка по отдельности, чтобы впоследствии лучше разобраться в структурной организации белка в целом. В своих исследованиях мы исходили из того, что структура отдельных доменов этого белка (соответствующих последовательностям, кодируемым отдельными экзонами) в значительной степени идентична структуре этих же доменов внутри целого белка и не зависит от структуры соседних доменов. Такой подход нельзя применять к изучению глобулярных белков, в которых отдельные структурные домены оказывают друг на друга взаимное влияние. Однако было показано, что эластин является так называемым фрактальным белком [28, 29], т. е. он обладает свойством статистического самоподобия. Таким образом, даже очень короткие последовательности белка имеют молекулярные и надмолекулярные характеристики, сходные с соответствующими характеристиками всего белка в целом [30, 31]. Скорее всего, это явление связано с наличием большого числа повторяющихся последовательностей эластина, которые обнаружены на разных уровнях вдоль всей последовательности белковой молекулы [32]. В более ранних исследованиях было показано, что другие биологические свойства этого белка, такие как хемотаксис [33, 34], сосудорасширяющая активность [35] и усиление экспрессии металлопротеиназ, [36] также связаны с последовательностями, кодируемыми отдельными экзонами.

В рамках выбранного нами редукционистского подхода мы выполнили полный химический синтез поочередно всех доменов человеческого тропоэластина и осуществили полный конформационный анализ синтетических полипептидов [22, 37, 38].

Для изучения структуры и свойств полипептидов были использованы различные современные методы анализа, метод кругового дихроизма (КД), инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (ИК-Фурье) и рамановская спектроскопия (комбинационное рассеяние). КД-спектроскопия в дальней УФ-области, которую часто используют для конформационного анализа пептидов и белков [39], основана на наблюдении, что различные варианты вторичной структуры имеют специфические КД-спектры. Метод позволяет легко идентифицировать α -спирали, β -слои, а также некоторые другие виды вторичной структуры, такие как спираль РРП. Метод кругового дихроизма является основным спектральным методом, позволяющим однозначно указать на наличие данной конформации [40, 41]. Аналогичным образом некоторые типы β -поворотов имеют свой характерный вид КД-спектра [42].

Мы осуществили конформационный анализ различных доменов эластина, сравнивая полученные спектры с КД-спектрами пептидов с известной вторичной структурой или пептидов, имеющих несколько вариантов вторичной структуры [43]. В частности, для обнаружения

различных конформаций пептидов в растворе мы проводили анализ их спектральных свойств в присутствии различных растворителей и при разной температуре.

Анализ КД-спектров значительно усложняется, если полимер присутствует в нескольких конформациях или легко переходит из одной конформации в другую. В подобных случаях КД-спектры соответствуют линейной комбинации всех вариантов вторичной структуры. Кроме того, дополнительная сложность в интерпретации КД-спектров пептидов может быть связана с наличием хромофоров. Тем не менее даже при наличии очень небольшого количества образца этот метод позволяет определить предпочтительную конформацию пептида.

По сравнению с КД-спектроскопией для проведения ЯМР-анализа требуется значительно большее количество образца. Кроме того, в тех случаях, когда речь идет о быстрых взаимных переходах различных конформаций, интерпретация результатов ЯМР требует особого внимания [44]. «Медленная» временная шкала ЯМР-анализа не позволяет дискриминировать вклад различных конформаций, и в результате все параметры ЯМР-спектров, используемые для определения структуры (такие как химический сдвиг, коэффициент спин-спинового взаимодействия, температурный коэффициент и ядерный эффект Оверхаузера), оказываются усредненными по ансамблю и по времени. Тем не менее ЯМР-спектроскопия позволяет определить предпочтительную вторичную структуру полипептидной последовательности. Например, конформационный анализ домена, закодированного экзоном 5, показывает, что этот участок имеет выраженную склонность к образованию коротких последовательностей элементов РРП-структуры, которые довольно часто встречаются в гидрофобных эластичных последовательностях эластина. Недавно было выдвинуто предположение, что эти элементы вторичной структуры определяют эластичность эластина и играют важную роль в процессе самосборки таких белков внеклеточного матрикса, как эластин и ламприн [41, 45, 46]. В то же время β -повороты были обнаружены и в менее полярном растворителе, каким является 2,2,2-трифторэтанол (ТФЭ). В целом полученные результаты говорят о том, что производные эластина характеризуются значительной гибкостью полипептидной цепи, переходящей из достаточно растянутой конформации (такой как РРП) в свернутую конформацию (такую как с β -поворотами) [47]. Дополнительное подтверждение правильности подобной трактовки было получено в результате молекулярно-динамического моделирования, которое продемонстрировало наличие быстрых взаимопревращений между растянутой (главным образом, РРП) и свернутой (β -повороты) конформациями.

Суммируя результаты КД и ЯМР, можно утверждать, что в водном растворе преобладающей конформацией является РРП, часто находящаяся в равновесии с «неупорядоченным» состоянием последовательности. Однако в условиях *in vivo* состояние микроокружения, определяющего конформацию пептидной цепи, заведомо неизвестно и может отличаться от условий в толще раствора. Более того, гидрофобность

эластина и его способность образовывать поперечные шивки указывают на то, что полярность микроокружения молекулы меньше полярности окружающего раствора (например, воды).

По этой причине спектры снимали как в воде, так и в менее полярном растворителе ТФЭ. В ТФЭ были обнаружены свернутые конформации, такие как с β -поворотами типов I и II, наблюдали также неупорядоченную конформацию. Мы пришли к заключению, что растянутая и свернутая конформации являются лабильными, т. е. они находятся в динамическом равновесии друг с другом и, как в случае β -поворотов, скользят вдоль полимерной цепи (см. рис. 9.1). Эти выводы подтверждаются результатами моделирования [20, 48]. Исходя из соображения, что микроокружение полимера в условиях *in vivo* может быть усредненным между микроокружением в воде и ТФЭ, мы предложили общее уравнение, описывающее состояние эластина:

свернутый \leftrightarrow растянутый.

В участках цепи, содержащих лизин и последовательности полиаланина (КА-домены), преобладающей оказалась α -спиральная структура. Напротив, КР-домены принимают конформацию РРП-спиралей или β -поворотов, как и гидрофобные последовательности [22, 38].

Для оценки свойств полипептидов в твердом состоянии обычно используют комбинационное рассеяние и ИК-спектроскопию с преобразованием Фурье (ИК-Фурье). Хотя оба метода основаны на изучении колебательного спектра полипептидов, который в значительной степени зависит от вторичной структуры полимера, сочетание двух методов позволяет получить взаимодополняющую информацию. Основной вклад в полосу амида I вносит растяжение карбонильной связи $C=O$, несколько меньший вклад вносит растяжение связи $C-N$ и изгиб связи $N-H$. В полосы амида II и III основной вклад вносит растяжение связи $C-N$ и изгиб связи $N-H$. При анализе полипептидных производных эластина 3, 7 и 30 в твердом состоянии методом комбинационного рассеяния была обнаружена специфическая узкая полоса на частоте 1314 см^{-1} , которую мы объяснили присутствием РРП-структуры, что подтверждено результатами КД-спектроскопии в растворе [49]. Кроме того, результаты комбинационного рассеяния продемонстрировали наличие в полипептидных производных эластина α -спиралей и β -слоев, хотя и в больших количествах. Дело в том, что в твердом состоянии РРП-спирали легко превращаются в α -спирали, поскольку «некооперативные РРП-спирали получаются при минимизации плотности упаковки цепи, тогда как α -спирали представляют собой компактные структуры, образующиеся при максимально плотной упаковке в результате кооперативного действия внутримолекулярных водородных связей и вандер-ваальсовых взаимодействий» [50]. Кроме того, превращение РРП-спирали в β -слой довольно часто происходит в других белках [51]; этот конформационный переход связан с повышением температуры или с различием в сольватации РРП и β -структур.

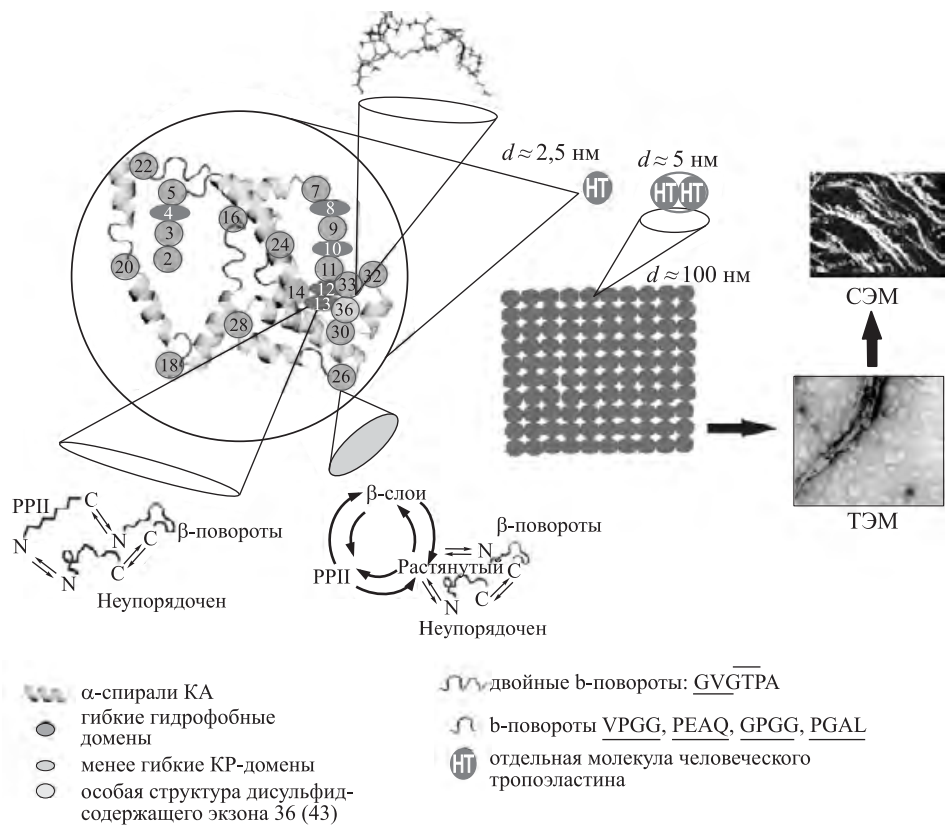


Рис. 9.3. Упрощенная схема молекулярной и надмолекулярной структуры тропоэластина человека. На микрофотографиях представлен эластин из выйной связки (*Ligament nuchae*). Рисунок (с модификациями) взят из статьи [38] с разрешения Американского химического общества

Все эти результаты подтверждают высказанное ранее предположение о том, что хрупкость эластина в отсутствие воды связана с увеличением доли β-слоев/β-структур [52, 53]. Аналогичным образом, метод ИК-Фурье подтвердил наличие конформационного равновесия между РРП и β-слоями в полипептидных производных эластина 28 и 30 в твердом состоянии [23, 54].

Представленные выше результаты позволили нам составить общую схему (рис. 9.3), отражающую сборку целой молекулы (сборку «пазла эластина»), начиная с основных доменов.

9.3. Надмолекулярная структура эластина

В рамках изучения надмолекулярной структуры доменов тропоэластина мы решили, во-первых, изучить способность доменов тропоэластина к самоорганизации, для чего был использован метод турбидиметрии;

во-вторых, провести микроскопический анализ морфологии самоорганизованных пептидов.

9.3.1. Способность к самоорганизации

Придерживаясь упомянутого ранее редукционистского подхода, мы синтезировали последовательности, кодируемые всеми экзонами тропоэластина человека [22], и проанализировали их способность к самоорганизации. Последовательности изученных полипептидов представлены в табл. 9.1.

Все полипептиды относятся к разным участкам последовательности тропоэластина. Так, ППЭ5 и ППЭ30 относятся к богатым глицином гидрофобным доменам, ответственным за эластичность белка, поскольку содержание глицина в них превышает 45%. ППЭ19 относится к КА-домену, характеризующемуся высоким содержанием аланина и лизина и ответственному за образование поперечных сшивок. Наконец, ППЭ18, 20, 24 и 26 относятся к более крупным богатым пролином гидрофобным доменам, которые, возможно, также отвечают за эластичность белка. Кроме того, ППЭ24 содержит мотив VGVAPG, который чаще других повторяется в молекуле человеческого тропоэластина, а ППЭ26 содержит «нонапептидную» последовательность VGXGVPGZG ($X = V, A; Z = L, F$). Среди всех изученных пептидов при обычных условиях способность к коацервации продемонстрировали только пептиды из богатых пролином доменов (т. е. ППЭ18, ППЭ20 и ППЭ24); ППЭ26 образует коацерваты только в высокой концентрации.

9.3.2. Коацервация эластина

Процесс коацервации представляет собой зависимый от температуры, полностью обратимый фазовый переход, в результате которого происходит образование двух фаз: богатая белком фаза называется коацерватом, другая содержит мало белка и представляет собой водный раствор. Процесс образования коацерватов очень характерен для тропоэластина и некоторых растворимых производных эластина, таких как α -эластин [55] и полипептидные производные эластина [56].

Самосборка тропоэластина представляет собой ключевой этап созревания эластина и связана со способностью тропоэластина образовывать коацерваты с частичным выделением воды; это происходит при 37 °C в диапазоне pH от 7 до 8 в физиологическом солевом растворе [57]. Данный процесс играет важную роль в правильном выстраивании доменов, необходимом для образования внутримолекулярных перекрестных сшивок [58]. Способность к коацервации — важнейшее свойство тропоэластина, связанное с участием отдельных гидрофобных доменов и с их расположением внутри молекулы. Таким образом, очень важно понять роль каждого домена тропоэластина в процессе сборки белка.

Изучение коацервации отдельных доменов тропоэластина показало, что некоторые полипептиды способны образовывать коацерваты приблизительно таким же (но не идентичным) образом, как весь белок [59].

Таблица 9.1
Последовательности и молекулярные массы пептидных производных эластина (ППЭ)

Пептид	Последовательность	М, Да
ППЭ5	PGGLAGAGLGA	839,9
ППЭ19	GAAAGLVPGGPGFGPGVVGVPAGAGVPGVGPAGIPVVPGAGIPGAAVP	4005,6
ППЭ18	GVVSPEAAAKAAKAAY	1702,9
ППЭ24	GLVPGVGVAPGVGVAPGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPGI	3932,6
ППЭ20	GARPGVGVGGIPTYGVGAGGFGFGVGVGGIPGVAGVPSVGGVPGVGGVPGVGIS	4641,3
ППЭ24s*	APAPVVAVVGAAAVVGGVGGGGGGGPVVGGVGGPVGLPLPIPVVVA	3932,6
ППЭ26	RAAAGLGAGIPGLGVGVPGLVGAGVPGLVGAGVPGFGA	3437,0
ППЭ26s**	GVGVGGAGGVAVGIGGAALRPAPLGPLGLGVAGGPAVGFG	3437,0
ППЭ28	GAAVPGVLGGLGALGGVGIPGGVV	1944,3
ППЭ30	GLVGAAGLGGGLGVGGVPGVGGGLG	1961,0

* — ППЭ24 с измененной последовательностью.
** — ППЭ26 с измененной последовательностью.

В частности, богатые пролином гидрофобные домены, кодируемые экзонами 18, 20, 24 и 26 гена тропозеластина, способны к самоорганизации в результате коацервации. Несмотря на свою небольшую молекулярную массу по сравнению с целым белком, эти полипептиды длиной от 40 до 54 аминокислотных остатков при нагревании демонстрировали такое же обратимое разделение фаз, как и целый белок, что говорит о том, что эта способность белка связана именно с гидрофобными доменами.

Самый большой пептид, ППЭ20, состоящий из 54 аминокислотных остатков, имел самую низкую критическую температуру ($t_{кр}$). Пептиды ППЭ24s и ППЭ26s с измененной последовательностью, имеющие такой же аминокислотный состав и, следовательно, такой же индекс гидрофобности, что и родительские пептиды, плохо растворялись в буфере и поэтому не могли подвергаться обратимой коацервации. Для изучения влияния полярности среды на процесс коацервации мы осуществили те же самые эксперименты в буферном растворе, содержащем 7,5% ТФЭ. В таблице 9.2 суммированы результаты с критическими температурами теплового перехода ППЭ18, ППЭ20, ППЭ24 и ППЭ26 в буфере и в 7,5% -м растворе ТФЭ.

В присутствии ТФЭ температура коацервации значительно снижалась, а поглощение образцов увеличивалось. Это указывает на облегчение фазового перехода ППЭ в присутствии ТФЭ, а также на увеличение размера агрегатов, образующихся при коацервации. В то же время результаты анализа КД-спектров, полученных в этих растворах (здесь не приведены), указывали на отсутствие конформационных изменений пептидов при наличии в растворе ТФЭ. Мы предположили, что ТФЭ образует пленку на поверхности пептида, вытесняя молекулы воды [60]. Таким образом, взаимодействия пептид–вода ослабевают, а их место занимают взаимодействия пептид–пептид, что благоприятствует самоорганизации.

Напротив, ППЭ28 и ППЭ30 при повышении температуры не образуют коацерватов, а необратимо выпадают в осадок.

Таблица 9.2

Температура коацервации в средней точке фазового перехода ($t_{кр}$) без ТФЭ (раствор А, 1 мМ) и в присутствии 7,5% ТФЭ (раствор Б, 1 мМ)

Пептид	$t_{кр}$ в растворе А, °С	$t_{кр}$ в растворе Б, °С	$\Delta t_{кр}$, °С
ППЭ18	61	21	40
ППЭ20	44	29	15
ППЭ24	70	28	42
ППЭ26	53*	19	34

* Концентрация раствора 3 мМ.

9.3.3. Микроскопические методы анализа

Для изучения микроструктуры эластина (ультраструктуры) применяют различные методы. Начиная с первых работ, в которых структуру эластина описывали как аморфную, постепенно выявлялась все более сложная и разнообразная морфология белка [61, 62].

Способность некоторых изолированных доменов тропоэластина к самоорганизации изучали с помощью микроскопических методов, сравнивая ультраструктуру полипептидов со структурой всей молекулы тропоэластина, чтобы идентифицировать участки молекулы тропоэластина, ответственные за его характерный способ сборки [60].

В своих пионерских работах Готте с соавторами [61, 62] с помощью метода просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) продемонстрировали наличие в структуре эластина и тропоэластина похожих волокон, объединенных в пучки диаметром от 3 до 5 нм (см. рис. 9.3). Образование пучков волокон тропоэластина было исследовано [63]. Аналогичной надмолекулярной структурой обладают некоторые родственные эластину полипептиды [3].

Позднее Тамбурро с коллегами показали, что домены, кодируемые экзонами 20 и 26, формируют надмолекулярную структуру, которая в точности напоминает структуру эластина и тропоэластина [60]. В частности, с помощью метода ПЭМ было показано, что после инкубации при 50 °С ППЭ20 образует как гибкие пучки, состоящие из волокон диаметром от 4 до 6 нм, так и ленты поперечно связанных волокон. Обе структуры напоминают структуры, которые образуют молекулы тропоэластина (рис. 9.4) [60], что указывает на то, что в условиях *in vivo* эти домены могут играть ключевую роль в сборке молекул тропоэластина, приводящей к образованию эластичных волокон.

По аналогии, ППЭ26 имеет выраженную тенденцию собираться упорядоченным образом, что было продемонстрировано с помощью различных микроскопических методов [64]. На рисунке 9.5, *а* изображена типичная структурная организация пептида ППЭ26 после 24 ч инкубации при 35 °С. При повышении температуры до 50 °С и увеличении длительности эксперимента до 48 ч и даже 10 сут. количество пучков увеличивается. Типичная картина представлена на рисунке 9.5, *б*. Пучки были достаточно длинными и значительно различались по толщине в одном и том же образце. При большем увеличении видно, что пучки состоят из волокон толщиной около 5 нм, имеющих слегка волнистую структуру (показано стрелками).

При микрометровом разрешении мы наблюдали наличие очень длинных волокон, а также картину фрактальной агрегации. Тенденция к агрегации связана с последовательностью ППЭ26, а не с его аминокислотным составом, что следует из результатов анализа надмолекулярной структуры пептида ППЭ26s с измененной последовательностью, демонстрирующего совершенно иной характер агрегации (данные не представлены).

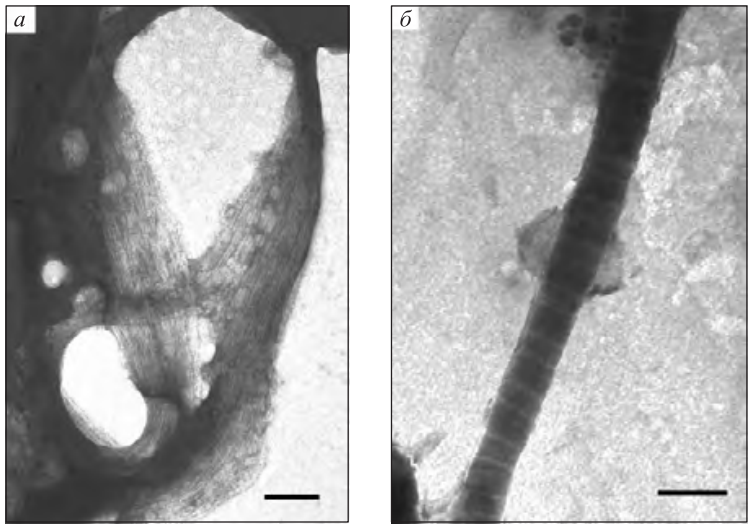


Рис. 9.4. ПЭМ-изображение домена тропоэластина человека, кодируемого эксоном 20, после окрашивания раствором уранилацетата и инкубации при 50 °С в течение 24 ч: *a* — пучки волокон толщиной от 4 до 6 нм, масштабная полоска соответствует 250 нм; *б* — лента из волокон, масштабная полоска — 100 нм. Взято с разрешения из статьи [60] издательства Elsevier

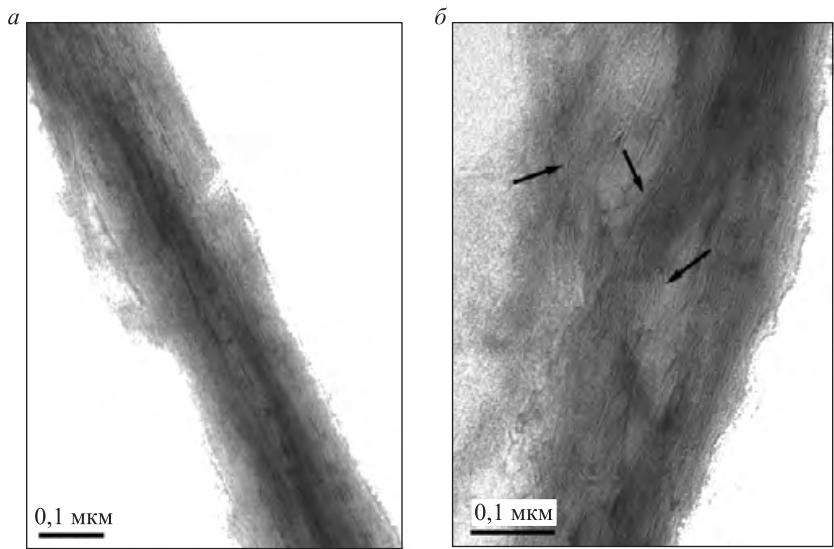


Рис. 9.5. ПЭМ-изображение домена, кодируемого эксоном 26, после инкубации при 35 °С через 24 ч; видны пучки плотно прилегающих друг к другу вытянутых волокон (*a*) и аналогичные пучки волокон, полученные при инкубации того же домена при 50 °С в течение 48 ч (*б*). Стрелки указывают на изогнутость волокон. Взято из статьи [64] с разрешения издательства Elsevier

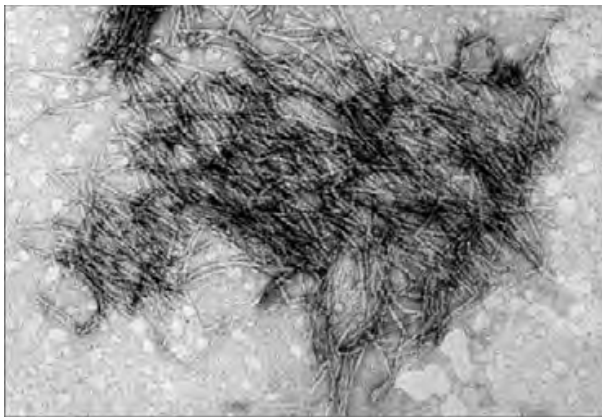


Рис. 9.6. ПЭМ-изображение домена тропоэластина человека, кодируемого экзоном 30, после окрашивания раствором уранилацетата и инкубации при 50 °С в течение 24 ч. Взято из статьи [60] с разрешения издательства Elsevier

Эти данные подтверждают идею о том, что в процессе самоорганизации тропоэластина ведущую роль могут играть именно специфические последовательности аминокислот и что к числу таких последовательностей относятся домены, кодируемые экзонами 20 и 26.

Напротив, домен, кодируемый экзоном 24, который характеризуется наличием большого числа повторов VGVAPG, образует довольно жесткие и короткие волокна, не имеющие выраженной тенденции собираться в упорядоченные пучки (рис. 9.6). Заметим, что повтор VGVAPG играет важную роль в ремоделировании внеклеточного матрикса, при заживлении ран, в процессе старения и в некоторых патологических процессах [65, 66]. Кроме того, хорошо известно, что этот гексапептид задействован в хемотаксисе, пролиферации клеток и других процессах, связанных с формированием и заживлением тканей.

Полипептидные последовательности, кодируемые экзоном 30 тропоэластина человека [37] и быка [67], состоят из 25 аминокислотных остатков. Они образуют очень длинные и достаточно гибкие волокна, которые имеют тенденцию расти в длину, не склеиваясь при этом друг с другом. Со временем эти волокна перестраиваются, скручиваясь в виде каната. Обнаруженные спиральные волокна удивительным образом напоминают амилоидные волокна (рис. 9.7). Способность данного домена образовывать подобные волокна была подтверждена не только спектральными методами, но и с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) [68]. Кроме того, по данным АСМ, домен тропоэластина человека, кодируемый экзоном 28, образует крупную левозакрученную суперспираль длиной 100 мкм, а также агрегаты разного размера, некоторые из них образованы сплетенными в спираль волокнами [69].

Полученные изображения наглядно показывают, что некоторые домены тропоэластина человека способны образовывать волокна, напо-

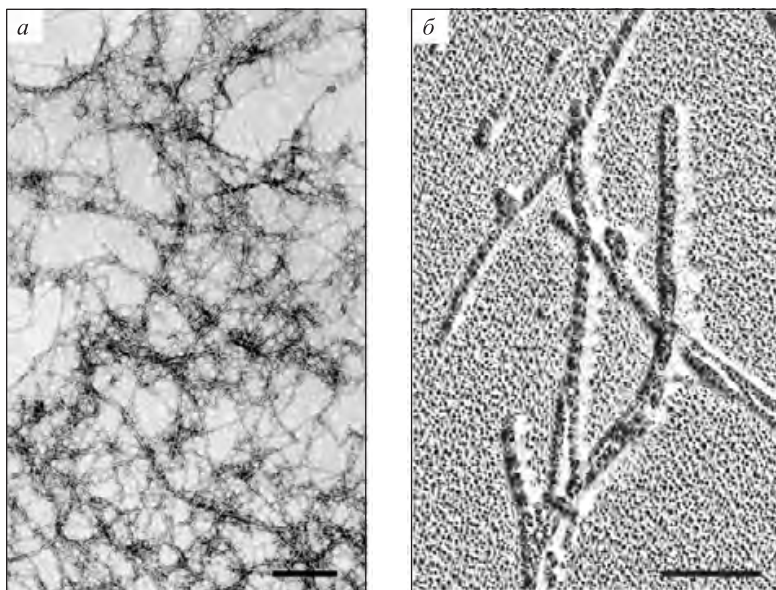


Рис. 9.7. ПЭМ-изображение домена, кодируемого экзоном 30, после инкубации при 50 °С: *а* — сеть амилоидоподобных филаментов, негативное окрашивание, масштабная полоска соответствует 500 нм; *б* — волокна, скрученные в виде каната, которые были обнаружены после инкубации при 50 °С через 48 ч, масштабная полоска — 500 нм. Взято из статьи [60] с разрешения издательства Elsevier

минающие волокна амилоида. Естественным образом встает вопрос об участии эластиновых фрагментов в отложении амилоида [68, 70]. Известно, что при некоторых патологических состояниях в эластичных тканях возникают специфические агрегаты. В частности, при интерстициальных заболеваниях легких эластин образует агрегаты, напоминающие агрегаты амилоида [71]. Возрастные отложения такой структуры на стенках кровеносных сосудов обычно сопровождаются усилением расщепления эластина различными протеазами. Поэтому мы предположили, что при определенных патологических состояниях в связи с изменением микросреды растворимые пептиды, высвобождающиеся в результате протеолитического расщепления эластина, начинают медленно агрегировать с образованием амилоидоподобных структур, что и объясняет накопление «эластотического материала». Расщепление эластина эластазами усиливается в присутствии ненасыщенных жирных кислот [72], накапливающихся в эластичных волокнах внутри атероматозных бляшек [73]. Таким образом, по-видимому, липиды играют двойную роль: они не только способствуют расщеплению эластина протеазами, но также создают благоприятные условия для агрегации амилоида. Протеолитический анализ, осуществленный Гети с соавторами [74], показал, что пептиды с общей последовательностью XGGZG

под действием ферментов высвобождаются из амилоидогенных полипептидных последовательностей (экзон 30: AGLGGLGVGGV, экзон 28: GGLGALGGVGPGGVVGGA), что подтверждает исходную гипотезу.

В целом результаты анализа ультраструктуры белка показывают, что некоторые домены даже в изолированном виде образуют надмолекулярную структуру, аналогичную надмолекулярной структуре всего белка. Это наблюдение позволило нам не только идентифицировать те домены, которые ведут себя так, как молекула в целом, но также приписать некоторым из них определенную функцию, связанную с физиологическими или патологическими процессами [60, 68, 69].

9.4. Заключение

Важный вывод, который следует из описанных выше результатов, состоит в том, что в случае некоторых фибриллярных (но не глобулярных) белков, таких как эластин, редукционистский подход применим даже на внутримолекулярном уровне. Наиболее удивительным для нас было то, что особенности как молекулярной, так и надмолекулярной структуры всего белка воспроизводятся даже в отдельных доменах эластина. Объяснить подобные наблюдения можно следующим образом:

- Ген тропоэластина имеет специфическую доменную организацию (см. рис. 9.2). По этой причине полипептидные последовательности, закодированные отдельными экзонами, обладают как функциональной, так и структурной автономией. Следовательно, структура каждого домена имеет особое значение для функционирования целого белка и сборки всего «молекулярного паззла».
- Структура эластина имеет фрактальный характер. Эта особенность эластина была продемонстрирована экспериментальным путем, но ее можно предсказать и теоретически ввиду наличия в последовательности белка многочисленных повторов. Все это позволяет синтезировать отдельные домены и даже простые модельные полипептиды, довольно хорошо отражающие физико-химические свойства эластина. В принципе, это говорит о возможности создания полимерных биоматериалов со свойствами эластина [11, 75].

В заключение следует сказать, что редукционистский подход можно применять и к изучению других эластомерных белков. В частности, редукционистский подход был использован на начальном этапе исследования таких белков, как ламприн [45], абдуктин [76, 77] и резилин [46], которые характеризуются наличием многочисленных повторяющихся последовательностей и в результате, говоря на языке фрактальной геометрии, являются самоподобными. Уже понятно, что конформационное пространство этих белков такое же, как и у эластина. По этой причине на основании полученных ранее результатов [24, 37, 38] было высказано предположение, что механизм эластичности [77] является общим для большинства эластомерных белков.

Литература

1. Foster, J.A., Bruenger, E., Gray, W.R., Sandberg, L.B. 1973. Isolation and amino acid sequences of tropoelastin peptides. *J. Biol. Chem.* 248(8): 2876–2879.
2. Sandberg, L.B., Leslie, J.G., Leach, C.T., Alvarez, V.L., Torres, A.R., Smith, D.W. 1985. Elastin covalent structure as determined by solid phase amino acid sequencing. *Pathol. Biol. (Paris)* 33(4): 266–274.
3. Urry, D.W., Long, M.M., Cox, B.A., Ohnishi, T., Mitchell, L.W., Jacobs, M. 1974. The synthetic polypentapeptide of elastin coacervates and forms filamentous aggregates. *Biochim. Biophys. Acta* 371(2): 597–602.
4. Urry, D.W. 1988. Entropic elastic processes in protein mechanisms. II. Simple (passive) and coupled (active) development of elastic forces. *J. Protein Chem.* 7: 81–114.
5. Long, M.M., Rapaka, R.S., Volpin, D., Pasquali-Ronchetti, I., Urry, D.W. 1980. Spectroscopic and electron micrographic studies on the repeat tetrapeptide of tropoelastin: (Val-Pro-Gly-Gly)_n. *Arch. Biochem. Biophys.* 201(2): 445–452.
6. Urry, D.W., Onishi, T., Long, M.M., Mitchell, L.W. 1975. Studies on the conformation and interactions of elastin: Nuclear magnetic resonance of the polyhexapeptide. *Int. J. Pept. Protein Res.* 7(5): 367–378.
7. Daga Gordini, D., Guantieri, V., Tamburro, A.M. 1989. Electron microscopic evidence for elastin-like supramolecular organization in synthetic polytripeptides. *Connect. Tissue Res.* 19(1): 27–34.
8. Castiglione-Morelli, A., Scopa, A., Tamburro, A.M., Guantieri, V. 1990. Spectroscopic studies on elastin-like synthetic polypeptides. *Int. J. Biol. Macromol.* 12(6): 363–368.
9. Flamia, R., Zhdan, P.A., Martino, M., Castle, J.E., Tamburro, A.M. 2004. AFM study of the elastin-like biopolymer poly(ValGlyGlyValGly). *Biomacromolecules* 5(4): 1511–1518.
10. Tamburro, A.M., Guantieri, V., Gordini, D.D. 1992. Synthesis and structural studies of a pentapeptide sequence of elastin. Poly(Val-Gly-Gly-Leu-Gly). *J. Biomol. Struct. Dyn.* 10(3): 441–454.
11. Martino, M., Perri, T., Tamburro, A.M. 2002. Biopolymers and biomaterials based on elastomeric proteins. *Macromol. Biosci.* 2: 319–328.
12. Venkatachalam, C.M., Urry, D.W. 1981. Development of a linear helical conformation from its cyclic correlate. β -Spiral model of the elastin poly(pentapeptide) (VPGVG)_n. *Macromolecules* 14: 1225–1229.
13. Tamburro, A.M., Pepe, A., Bochicchio, B., Quaglino, D., Ronchetti, I.P. 2005. Supramolecular amyloid-like assembly of the polypeptide sequence coded by exon 30 of human tropoelastin. *J. Biol. Chem.* 280(4): 2682–2690.
14. Urry, D.W. 1983. What is elastin; what is not. *Ultrastruct. Pathol.* 4(2–3): 227–251.

15. Urry, D.W., Henze, R., Redington, P., Long, M.M., Prasad, K.U. 1985. Temperature dependence of dielectric relaxations in alpha-elastin coacervate: Evidence for a peptide librational mode. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 128(2): 1000–1006.
16. Urry, D.W. 1991. Thermally driven self-assembly, molecular structuring and entropic mechanisms in elastomeric polypeptides. *Molecular Conformation and Biological Interactions*. P. Balaram and S. Ramaseshan. Bangalore, India, Indian Academy of Science: 555–583.
17. Gross, P.C., Possart, W., Zeppezauer, M. 2003. An alternative structure model for the polypentapeptide in elastin. *Z. Naturforsch* 58: 873–878.
18. Li, B., Daggett, V. 2002. Molecular basis for the extensibility of elastin. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 23(5–6): 561–573.
19. Tamburro, A.M., Guantieri, V., Pandolfo, L., Scopa, A. 1990. Synthetic fragments and analogues of elastin. II. Conformational studies. *Biopolymers* 29(4–5): 855–870.
20. Lelj, F., Tamburro, A.M., Villani, V., Grimaldi, P., Guantieri, V. 1992. Molecular dynamics study of the conformational behavior of a representative elastin building block: Boc-Gly-Val-Gly-Gly-Leu-OMe. *Biopolymers* 32(2): 161–172.
21. Tamburro, A.M. 1990. Order-disorder in the structure of elastin: A synthetic approach. *Elastin: Chemical and Biological Aspects*. A.M. Tamburro and J.M. Davidson. Potenza, Galatina Congedo Editore: 127–145.
22. Tamburro, A.M., Bochicchio, B., Pepe, A. 2003. Dissection of human tropoelastin: Exon-by-exon chemical synthesis and related conformational studies. *Biochemistry* 42(45): 13347–13362.
23. Tamburro, A.M., Bochicchio, B., Pepe, A. 2005. The dissection of human tropoelastin: From the molecular structure to the self-assembly to the elasticity mechanism. *Pathol. Biol. (Paris)* 53(7): 383–389.
24. DeBelle, L., Tamburro, A.M. 1999. Elastin: molecular description and function. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31(2): 261–272.
25. Ma, K., Wang, K. 2003. Malleable conformation of the elastic PEVK segment of titin: Non-co-operative interconversion of polyproline II helix, beta-turn and unordered structures. *Biochem. J.* 374(Pt. 3): 687–695.
26. Rosenbloom, J., Abrams, W.R., Mecham, R. 1993. Extracellular matrix 4: The elastic fiber. *FASEB J.* 7(13): 1208–1218.
27. Floquet, N., Pepe, A., Dauchez, M., Bochicchio, B., Tamburro, A.M., Alix, A.J. 2005. Structure and modeling studies of the carboxy-terminus region of human tropoelastin. *Matrix Biol.* 24(4): 271–282.
28. Tamburro, A.M., De Stradis, A., D'Alessio, L. 1995. Fractal aspects of elastin supramolecular organization. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 12(6): 1161–1172.

29. Pepe, A., Bochicchio, B., Tamburro, A.M. 2007. Supramolecular organization of elastin and elastin-related nanostructured biopolymers. *Nanomedicine* 2(2): 203–218.
30. Tamburro, A.M. 1995. The supramolecular structures of elastin and related synthetic polypeptides: Scale invariant weaving. *Macrocyclic and Supramolecular Chemistry in Italy*. G. Savelli, Centro Stampa Universit di Perugia: 265–268.
31. D'Alessio, L., Tamburro, A.M., De Stradis, A. 1999. Observation of fractal structures in the supramolecular organization of protein molecules. *Fractals in Engineering, Proceedings*: 130–137.
32. Bressan, G.M., Argos, P., Stanley, K.K. 1987. Repeating structure of chick tropoelastin revealed by complementary DNA cloning. *Biochemistry* 26(6): 1497–1503.
33. Long, M.M., King, V.J., Prasad, K.U., Freeman, B.A., Urry, D.W. 1989. Elastin repeat peptides as chemoattractants for bovine aortic endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* 140(3): 512–518.
34. Castiglione Morelli, M.A., Bisaccia, F., Spisani, S., De Biasi, M., Trianiello, S., Tamburro, A.M. 1997. Structure-activity relationships for some elastin-derived peptide chemoattractants. *J. Pept. Res.* 49(6): 492–499.
35. Lograno, M.D., Bisaccia, F., Ostuni, A., Daniele, E., Tamburro, A.M. 1998. Identification of elastin peptides with vasorelaxant activity on rat thoracic aorta. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 30(4): 497–503.
36. Brassart, B., Fuchs, P., Huet, E., Alix, A.J., Wallach, J., Tamburro, A.M., Delacoux, F., Haye, B., Emonard, H., Hornebeck, W., Debelle, L. 2001. Conformational dependence of collagenase (matrix metalloproteinase-1) upregulation by elastin peptides in cultured fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 276(7): 5222–5227.
37. Pepe, A., Armenente, M.R., Bochicchio, B., Tamburro, A.M. 2009. Formation of nanostructures by self-assembly of an elastin peptide. *Soft Matter* 5(1): 104–113.
38. Tamburro, A.M., Pepe, A., Bochicchio, B. 2006. Localizing alpha-helices in human tropoelastin: Assembly of the elastin “puzzle.” *Biochemistry* 45(31): 9518–9530.
39. Woody, R.W. 1995. Circular dichroism. *Methods Enzymol.* 246: 34–71.
40. Woody, R.W. 1992. Circular dichroism and conformation of unordered polypeptides. *Adv. Biophys. Chem.* 2: 37–79.
41. Bochicchio, B., Tamburro, A.M. 2002. Polyproline II structure in proteins: Identification by chiroptical spectroscopies, stability, and functions. *Chirality* 14(10): 782–792.
42. Perczel, A., Hollosi, M. 1996. Turns. *Circular Dichroism: Conformational Analysis of Biomolecules*. G.D. Fasman. New York, Plenum: 285–380.

43. Perczel, A., Hollosi, M., Sandor, P., Fasman, G.D. 1993. The evaluation of type I and type II beta-turn mixtures. Circular dichroism, NMR and molecular dynamics studies. *Int. J. Pept. Protein Res.* 41(3): 223–236.
44. Bürgi, R., Pitera, J., van Gunsteren, W.F. 2001. Assessing the effect of conformational averaging on the measured values of observables. *J. Biomol. NMR.* 19(4): 305–320.
45. Boichicchio, B., Pepe, A., Tamburro, A.M. 2001. On (GGLGY) synthetic repeating sequences of lamprin and analogous sequences. *Matrix Biol.* 20(4): 243–250.
46. Boichicchio, B., Pepe, A., Tamburro, A.M. 2008. Investigating by CD the molecular mechanism of elasticity of elastomeric proteins. *Chirality* 20(9): 985–994.
47. Boichicchio, B., Floquet, N., Pepe, A., Alix, A.J., Tamburro, A.M. 2004. Dissection of human tropoelastin: Solution structure, dynamics and self-assembly of the exon 5 peptide. *Chem. Eur. J.* 10(13): 3166–3176.
48. Villani, V., Tamburro, A.M. 1995. Conformational modeling of elastin tetrapeptide Boc-Gly-Leu-Gly-Gly-NMe by molecular dynamics simulations with improvements to the thermalization procedure. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 12(6): 1173–1202.
49. Boichicchio, B., Ait-Ali, A., Tamburro, A.M., Alix, A.J. 2004. Spectroscopic evidence revealing polyproline II structure in hydrophobic, putatively elastomeric sequences encoded by specific exons of human tropoelastin. *Biopolymers* 73(4): 484–493.
50. Pappu, R.V., Rose, G.D. 2002. A simple model for polyproline II structure in unfolded states of alanine-based peptides. *Protein Sci* 11(10): 2437–2455.
51. Conway, K.A., Harper, J.D., Lansbury, P.T., Jr. 2000. Fibrils formed in vitro from alpha-synuclein and two mutant forms linked to Parkinson's disease are typical amyloid. *Biochemistry* 39(10): 2552–2563.
52. Tamburro, A.M. 1981. Elastin: Molecular and Supramolecular Structure. *Connective Tissue Research: Chemistry, Biology, and Physiology*. New York, A. R. Liss.
53. Megret, C., Lamure, A., Pieraggi, M.T., Lacabanne, C., Guantieri, V., Tamburro, A.M. 1993. Solid-state studies on synthetic fragments and analogues of elastin. *Int. J. Biol. Macromol.* 15(5): 305–312.
54. Boichicchio, B., Pepe, A., Tamburro, A.M. 2007. Elastic fibers and amyloid deposition in vascular tissues. *Future Neurology* 2: 523–537.
55. Partridge, S.M., Davis, H.F., Adair, G.S. 1955. The chemistry of connective tissues. 2. Soluble proteins derived from partial hydrolysis of elastin. *Biochem. J.* 61(1): 11–21.
56. Bellingham, C.M., Woodhouse, K.A., Robson, P., Rothstein, S.J., Keeley, F.W. 2001. Self-aggregation characteristics of recombinantly expressed human elastin polypeptides. *Biochim. Biophys. Acta* 1550(1): 6–19.

57. Vrhovski, B., Jensen, S., Weiss, A.S. 1997. Coacervation characteristics of recombinant human tropoelastin. *Eur. J. Biochem.* 250(1): 92–98.
58. Mithieux, S.M., Rasko, J.E., Weiss, A.S. 2004. Synthetic elastin hydrogels derived from massive elastic assemblies of self-organized human protein monomers. *Biomaterials* 25(20): 4921–4927.
59. Bochicchio, B., Jimenez-Oronoz, F., Pepe, A., Blanco, M., Sandberg, L.B., Tamburro, A.M. 2005. Synthesis of and structural studies on repeating sequences of abductin. *Macromol. Biosci.* 5(6): 502–511.
60. Pepe, A., Guerra, D., Bochicchio, B., Quaglino, D., Gheduzzi, D., Pasquali-Ronchetti, I., Tamburro, A.M. 2005. Dissection of human tropoelastin: Supramolecular organization of polypeptide sequences coded by particular exons. *Matrix Biol.* 24(2): 96–109.
61. Gotte, L., Giro, M.G., Volpin, D., Horne, R.W. 1974. The ultrastructural organization of elastin. *J. Ultrastruct. Res.* 46(1): 23–33.
62. Volpin, D., Pasquali-Ronchetti, I., Urry, D.W., Gotte, L. 1976. Banded fibers in high temperature coacervates of elastin peptides. *J. Biol. Chem.* 251(21): 6871–6873.
63. Bressan, G.M., Castellani, I., Giro, M.G., Volpin, D., Fornieri, C., Pasquali-Ronchetti, I. 1983. Banded fibers in tropoelastin coacervates at physiological temperatures. *J. Ultrastruct. Res.* 82(3): 335–340.
64. Pepe, A., Flamia, R., Guerra, D., Quaglino, D., Bochicchio, B., Pasquali-Ronchetti, I., Tamburro, A.M. 2008. Exon 26-coded polypeptide: An isolated hydrophobic domain of human tropoelastin able to self-assemble in vitro. *Matrix Biol.* 27(5): 441–450.
65. Bisaccia, F., Morelli, M.A., De Biasi, M., Traniello, S., Spisani, S., Tamburro, A.M. 1994. Migration of monocytes in the presence of elastolytic fragments of elastin and in synthetic derivatives. Structure-activity relationships. *Int. J. Pept. Protein Res.* 44(4): 332–341.
66. Floquet, N., Hery-Huynh, S., Dauchez, M., Derreumaux, P., Tamburro, A.M., Alix, A.J. 2004. Structural characterization of VGVAPG, an elastin-derived peptide. *Biopolymers* 76(3): 266–280.
67. Kozel, B.A., Wachi, H., Davis, E.C., Mecham, R.P. 2003. Domains in tropoelastin that mediate elastin deposition in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.* 278(20): 18491–18498.
68. Tamburro, A.M., Pepe, A., Bochicchio, B., Quaglino, D., Ronchetti, I.P. 2005b. Supramolecular amyloid-like assembly of the polypeptide sequence coded by exon 30 of human tropoelastin. *J. Biol. Chem.* 280(4): 2682–2690.
69. Bochicchio, B., Pepe, A., Flamia, R., Lorusso, M., Tamburro, A.M. 2007. Investigating the amyloidogenic nanostructured sequences of elastin: Sequence encoded by exon 28 of human tropoelastin gene. *Bio-macromolecules* 8(11): 3478–3486.

70. Ostuni, A., Bochicchio, B., Armentano, F., Bisaccia, F., Tamburro, A.M. 2007. Molecular and supramolecular structural studies on human tropoelastin sequence. *Biophys. J.* 93(10): 3640–3651.
71. Fan, K., Nagle, W.A. 2002. Amyloid associated with elastin-staining laminar aggregates in the lungs of patients diagnosed with acute respiratory distress syndrome. *BMC Pulm. Med.* 2: 5.
72. Guantieri, V., Tamburro, A.M., Gordini, D.D. 1983. Interactions of human and bovine elastins with lipids: Their proteolysis by elastase. *Connect. Tissue Res.* 12(1): 79–83.
73. Claire, M., Jacotot, B., Robert, L. 1976. Characterization of lipids associated with macromolecules of the intercellular matrix of human aorta. *Connect. Tissue Res.* 4(2): 61–71.
74. Getie, M., Schmelzer, C.E., Neubert, R.H. 2005. Characterization of peptides resulting from digestion of human skin elastin with elastase. *Proteins* 61(3): 649–657.
75. Rodriguez-Cabello, J.C., Prieto, S., Arias, F.J., Reguera, J., Ribeiro, A. 2006. Nanobiotechnological approach to engineered biomaterial design: The example of elastin-like polymers. *Nanomedicine* 1(3): 267–280.
76. Bochicchio, B., Pepe, A., Tamburro, A.M. 2005a. Circular dichroism studies on repeating polypeptide sequences of abductin. *Chirality* 17(7): 364–372.
77. Bochicchio, B., Jimenez-Oronoz, F., Pepe, A., Blanco, M., Sandberg, L.B., Tamburro, A.M. 2005b. Synthesis of and structural studies on repeating sequences of abductin. *Macromol. Biosci.* 5(6): 502–511.

ЭЛАСТИН И ПОЛИМЕРЫ НА ЕГО ОСНОВЕ

*Даниэла Куаглино, Дианна Гуерра
и Ивонна Паскуали-Ронкетти*

Университет Модены и Реджио-Эмилия, Модена, Италия

10.1. Введение

Эластин — нерастворимый эластомерный белок внеклеточного матрикса, который обеспечивает упругость и гибкость тканей, а эластичность является важнейшим свойством некоторых тканей, таких как кровеносные сосуды, легкие, кожа, пищевод и желудок [1, 2]. Тропоэластин (ТЭ) — растворимый предшественник эластина, играющий важнейшую роль в организации эластиновых волокон [3]. Известно, что тропоэластин синтезируется внутри клеток, а затем выходит из клеток, образует перекрестные сшивки и формирует волокна [4]. Эластиновые волокна состоят из двух основных компонентов: эластина (нерастворимого полимера, состоящего из мономерных звеньев ТЭ с молекулярной массой 70 кДа) и микрофибрилл (неразветвленных волокон фибриллина толщиной 10 нм) [5]. Микрофибриллы образуют пучки, которые, по-видимому, служат основой для прикрепления и ориентирования мономеров тропоэластина.

10.1.1. Эластин и эластиновые волокна

Эластин является основным компонентом эластиновых волокон, ответственным за упругость биологических тканей. Количество и размер волокон строго коррелируют с модулем упругости ткани, отражающим способность ткани возвращаться в исходное состояние после растяжения. Эластиновые волокна встроены в трехмерный матрикс, образованный различными белками, гликопротеинами и гликозаминогликанами, которые также определяют пластичность и деформируемость мягких соединительных тканей. Основная функция эластиновых волокон состоит в обеспечении первоначального состояния соединительной ткани после приложения нагрузки.

В эволюционном плане эластин является довольно молодым белком. У позвоночных он образуется, главным образом, в фибробластах и гладкомышечных клетках. Наиболее активно синтез этого белка происходит на стадии формирования плода, а также в детстве до достижения пубертатного периода. Затем ген эластина практически перестает экспрессироваться (по оценкам, для обновления эластина требуется

около 70 лет). Таким образом, эластин и эластиновые волокна во внеклеточном матриксе сохраняются на протяжении всей жизни человека. Молекулы эластина соединены в полимерную структуру посредством аминокислот, межмолекулярных перекрестных сшивок, называемых десмозинами, которые препятствуют действию некоторых протеолитических ферментов.

Эластин является основным компонентом стенок сосудов, в большом количестве он присутствует в легочной ткани и в коже, а также играет важную роль в функционировании некоторых органов, например оболочки Бруха в сетчатке глаза, где он формирует трехмерную эластичную сетку, поддерживающую сосуды сетчатки.

Эластин подвергается некоторым возрастным изменениям, но при этом остается одним из самых устойчивых белков и функционирует без обновления в организме даже очень пожилых людей [6]. Именно прочность и гибкость этого белка, а также способность образовывать трехмерную структуру, позволяют ученым рассматривать его в качестве идеального материала для тканевой инженерии.

10.1.1.1. Структурная организация эластиновых волокон

Эластиновые волокна состоят из эластина и некоторых белков, гликопротеинов и протеогликанов, которые могут различаться в зависимости от вида организма, ткани, возраста и состояния здоровья [6, 7].

Под микроскопом эластиновые волокна выглядят как длинные, разветвленные и переплетенные между собой нити шириной от 0,5 до 2 мкм и длиной несколько микрометров. Эти нити образуют трехмерную сетку. В коже и легочной ткани нити более тонкие, сама сеть довольно рыхлая. В стенках сосудов и оболочке Бруха эластин организован в виде ламелл, формирующих достаточно компактную сетку. Эластиновые волокна можно окрасить в красный цвет с помощью раствора резорцин-фуксина, в интенсивный синий цвет с помощью толудинового синего, а также в черный цвет с помощью гематоксилина и йодида калия по методу Вейгерта. В любом случае волокна выглядят как нити однородного состава, переплетенные с пучками коллагеновых волокон и клетками. Другие компоненты матрикса, такие как протеогликаны и гликопротеины, практически невозможно идентифицировать с помощью оптического микроскопа (рис. 10.1).

Метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) позволяет увидеть эластиновые волокна в виде гомогенного, несколько непрозрачного для электронов материала, организованного в виде разветвленных и переплетенных между собой волокон. На рисунке 10.2 представлено полученное этим методом изображение эластинового волокна из человеческой дермы, отражающее изменение этой ткани с возрастом [6]. На рисунке 10.2, *а* видно небольшое количество гомогенного эластина, окруженного линейными микрофибриллами, которые участвуют в процессе эластогенеза и служат в качестве основы для отложений эластина. На рисунке 10.2, *б* представлены эластиновые волокна взрослого человека, состоящие из прозрачного для электронов материала и

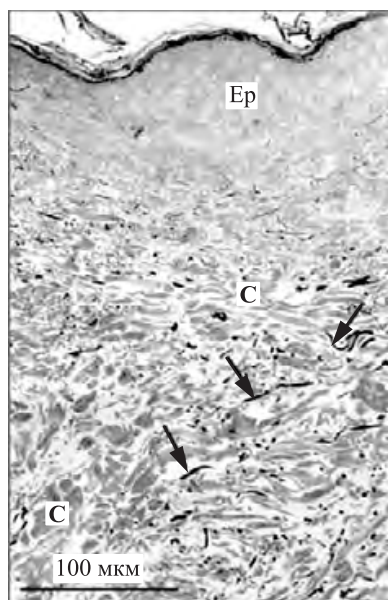


Рис. 10.1. Полученное с помощью оптического микроскопа изображение полутонкого среза кожи человека, окрашенного толуидиновым синим. Дерма, расположенная под слоем эпидермиса (Ер), состоит в основном из коллагеновых пучков (С, на рисунке светло-серые) и тонких эластиновых волокон (показаны стрелками)

содержащие остатки микрофибрилл. На рисунке 10.2, в изображены эластиновые волокна кожи пожилого человека, содержащие электронно-плотные включения, образованные деградированным эластином и ионными отложениями. Таким образом, метод ПЭМ позволяет увидеть, как минимум, некоторые белки и гликопротеины, связанные с эластиновыми волокнами в виде электронно-плотных пятен, рассредоточенных среди аморфного эластина.

Однако аморфная структура эластина, которая выявляется при стандартном варианте ПЭМ, может быть связана с гидрофобной природой этого белка и с теми манипуляциями, которые необходимо осуществить для его визуализации. Когда эластиновые волокна замораживают жидким азотом, а затем получают их срезы [8, 9], они выглядят составленными из отдельных бусинок, организованных в трехмерную структуру (рис. 10.3). Если волокна перед заморозкой растянуть, они оказываются вытянутыми в направлении приложенной силы, и это означает, что хотя бы отчасти приращение длины волокна при растяжении связано с выравниванием нитей белка (врезка на рис. 10.3). Организация молекул эластина в виде нанизанных на нити бусинок может говорить о том, что расположение этих молекул внутри полимерной сети не является случайным, а сами бусинки могут представлять собой

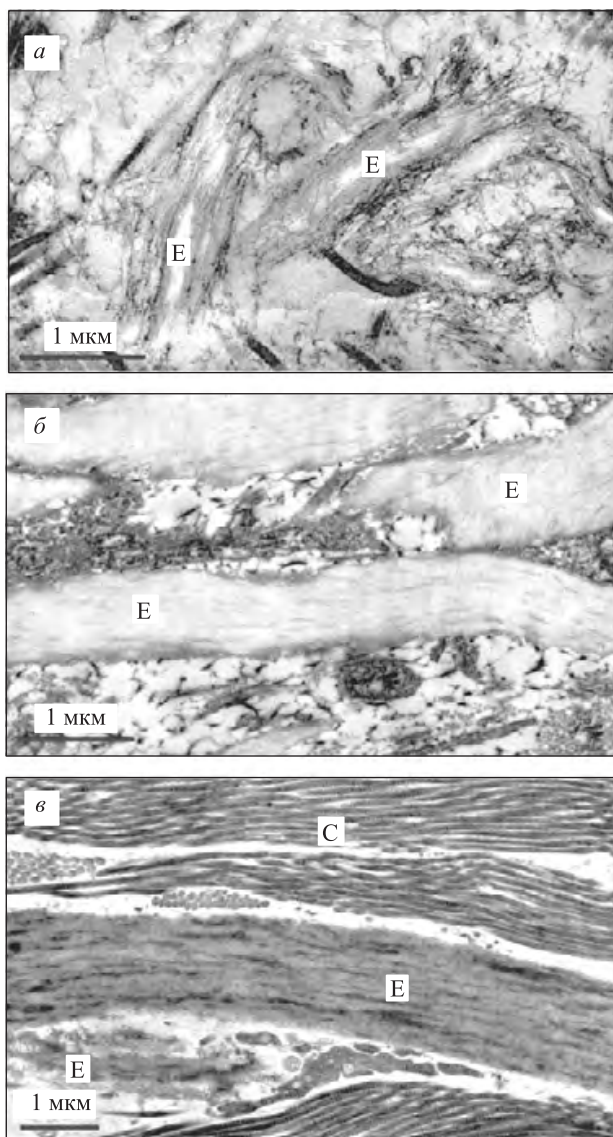


Рис. 10.2. Картина возрастных изменений эластинового волокна (Е) в дерме человека. Эластиновые волокна новорожденного (а) характеризуются наличием небольшого количества аморфного эластина, окруженного толстым слоем микрофибрилл. У взрослого человека (б) преобладает аморфный эластин, а на периферии волокон видны небольшие остатки микрофибрилл. У пожилых людей (в) в составе эластиновых волокон визуализируются многочисленные электронно-плотные образования. Также видны волокна коллагена (С)

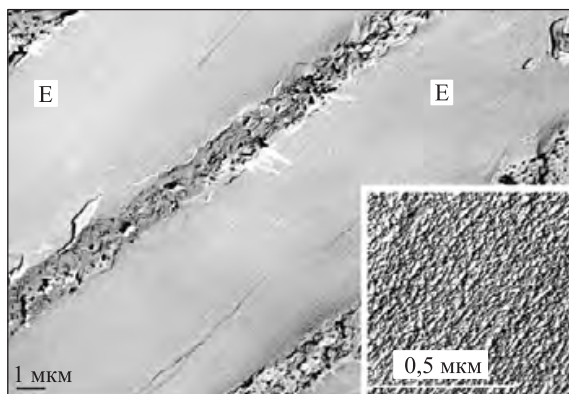


Рис. 10.3. Изображение эластинового волокна (Е) выйной связки быка, полученное методом ПЭМ с оттенением после замораживания и расслоения образца. При использовании данного метода аморфный компонент волокон визуализируется в виде последовательностей бусинок, организованных в трехмерную структуру (см. врезку)

гидрофобные домены белка. Такая организация отражает надмолекулярную структуру эластина, хотя анализ поведения белка на молекулярном уровне выявляет его аморфную структуру.

Для ответа на вопрос, аморфную или кристаллическую структуру имеет эластин, был применен метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК; прибор Q2000, TA Instruments) в режиме нагревание–охлаждение–нагревание. Для идентификации возможных переходов в нижней температурной области были использованы очень низкие значения температуры. Никаких изменений в этой области зафиксировано не было, и все остальные образцы были выдержаны при начальной температуре -25°C . Температуру стеклования определяли только во втором цикле нагревания. Первый цикл нагревания отличался очень широким эндотермическим пиком, что может объясняться испарением влаги из образца эластина или плохим контактом образца с дном тигля. Экзотермический пик (рис. 10.4) в цикле охлаждения не был связан с каким-либо изменением структуры вещества (таким как кристаллизация), он соответствовал потоку тепла, вызванного быстрым охлаждением ячейки. Из графика, представленного на рисунке 10.4, было определено значение температуры стеклования эластина (около $136,70^{\circ}\text{C}$), но изменения температуры плавления в цикле нагревания зафиксировано не было, что свидетельствует об аморфном строении эластина на молекулярном уровне.

Наличие рядов бусинок в надмолекулярной структуре эластина внутри волокон было также обнаружено при анализе свежемороженых образцов [8] и заключенных в связующее срезов [10] методом сканирующей силовой микроскопии. На рисунке 10.5 представлено

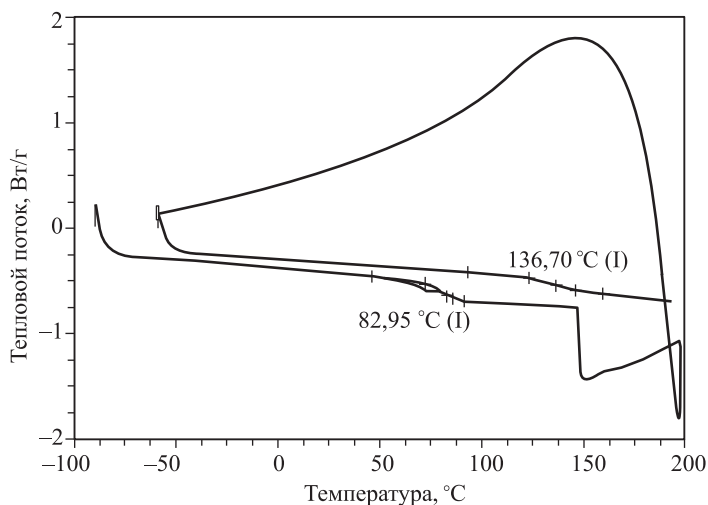


Рис. 10.4. Фазовые переходы эластинового волокна, определенные методом ДСК: выявлена аморфная структура вещества, пик плавления отсутствует

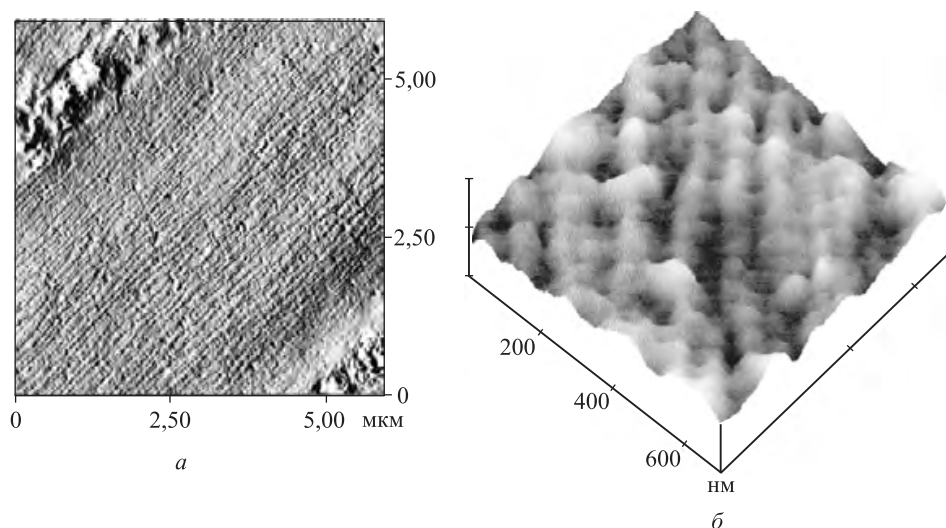


Рис. 10.5. Срезы заключенного в эпоксидную смолу эластинового волокна из выйной связки быка, исследованные с помощью атомно-силового микроскопа. Эластиновые волокна образованы рядами бусинок (а), которые также видны в замороженных срезах (рис. 10.3). При большем увеличении (б) можно увидеть мостики между рядами

изображение эластинового волокна из срезов «аморфного» материала, изображенного на рисунке 10.2. Это изображение, полученное с помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ), еще раз подтверждает тот факт, что внутри эластиновых волокон молекулы белка организованы в виде рядов бусинок и что аморфная структура эластина, которую наблюдают при использовании стандартных режимов просвечивающей электронной микроскопии, является артефактом, связанным с техникой проведения анализа. Более того, метод АСМ позволяет увидеть мостики между рядами бусинок (рис. 10.5, б), которые и должны существовать в трехмерной полимерной сети.

10.2. Тропоэластин

Тропоэластин — предшественник эластина, белок с молекулярной массой 70 кДа. Его модульная структура детально описана Тамбурро с соавторами (см. гл. 9). Тропоэластин построен из чередующихся гидрофобных и гидрофильных доменов и проявляет выраженную тенденцию к агрегации в солевых растворах при повышении температуры в рамках физиологического диапазона [11]. Этот обратимый процесс называется коацервацией. Выделенный и очищенный тропоэластин в солевом растворе начинает агрегировать при повышении температуры выше 30 °С, что видно по помутнению раствора. Электронно-микроскопическим анализом с негативным окрашиванием (метод визуализации объектов) при очень медленном повышении температуры удалось установить, что молекулы тропоэластина складываются в короткие палочки, которые постепенно удлиняются и слипаются боками, образуя длинные пучки нитей [12]. Изучению движущей силы этого процесса и участию в нем гидрофобных и гидрофильных доменов было посвящено несколько исследований [11–13]. В организме позвоночных животных молекулы тропоэластина образуются в основном в фибробластах и в гладкомышечных клетках, а затем секретируются во внеклеточное пространство, где собираются в небольшие группы, которые далее вступают во взаимодействие с микрофибриллами и формируют эластиновые волокна [14]. Заключительный этап полимеризации молекул тропоэластина с образованием нерастворимой трехмерной структуры происходит под действием внеклеточного фермента лизилоксидазы. Этот фермент индуцирует окислительное дезаминирование остатков лизина в молекуле тропоэластина, что приводит к образованию альдегидных групп, необходимых для образования десмозиновых поперечных сшивок внутри молекулы и между соседними молекулами. Процесс агрегации тропоэластина и образования перекрестных сшивок является довольно сложным, и до сих пор не совсем понятно, какие другие компоненты матрикса могут его активизировать или ингибировать [15].

В эластиновых волокнах обычно присутствуют несколько видов молекул, однако неизвестно, захватываются ли они случайным образом в полимерную сетку в ходе ее образования или же играют какую-то роль в поддержании стабильности волокон. В норме в эластиновых волокнах

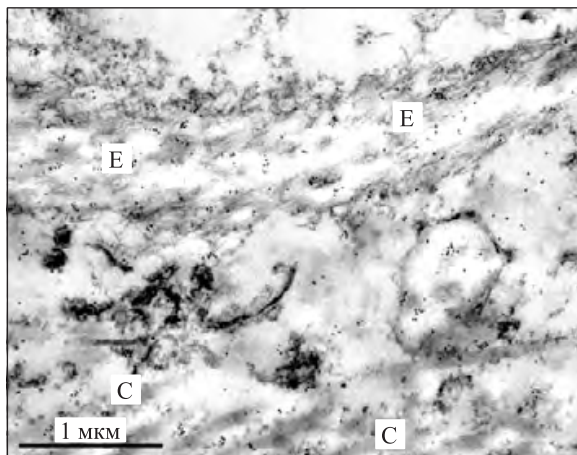


Рис. 10.6. Иммуноэлектронная микрофотография декорина — малого протеогликана, который присутствует во внеклеточном матриксе и взаимодействует с волокнами коллагена (C) и эластина (E) в коже человека. Иммунная реакция выражается в виде образования мелких черных частичек золота

присутствуют гликозаминогликаны (рис. 10.6) [16, 17], однако при патологии их содержание может возрасть, что нарушает структуру волокон.

Ингибирование образования межмолекулярных поперечных сшивок происходит при воздействии латирогенов* (рис. 10.7, а), а также при болезни Менкеса (рис. 10.7, б) — генетическом нарушении, вызванном мутацией фермента лизилоксидазы, в результате которого происходит образование аномальных эластиновых волокон с высоким содержанием гликозаминогликанов [18–20]. Для объяснения наличия этих молекул в эластиновых волокнах было высказано предположение, что отрицательно заряженные гликозаминогликаны могут оставаться связанными с положительно заряженными группами лизина в молекуле тропоэластина в результате ингибирования или мутации фермента лизилоксидазы, обеспечивающего образование перекрестных сшивок [19].

В то же время в исследованиях *in vitro* было показано, что очищенный тропоэластин взаимодействует с гликозаминогликанами, такими как гепаринсульфат, и что это взаимодействие способствует агрегации тропоэластина [17]. На рисунке 10.8, а изображен агрегат очищенных молекул тропоэластина, полученный при повышении температуры выше 30 °С; для визуализации использовано негативное окрашивание уранилацетатом. Краситель окружает имеющиеся структуры и позволяет увидеть нити, образуемые молекулами тропоэластина, которые

* Латирогены — группа веществ, препятствующих образованию поперечных сшивок; к ним относятся пенициламин, семикарбазид и другие вещества. — *Прим. перев.*

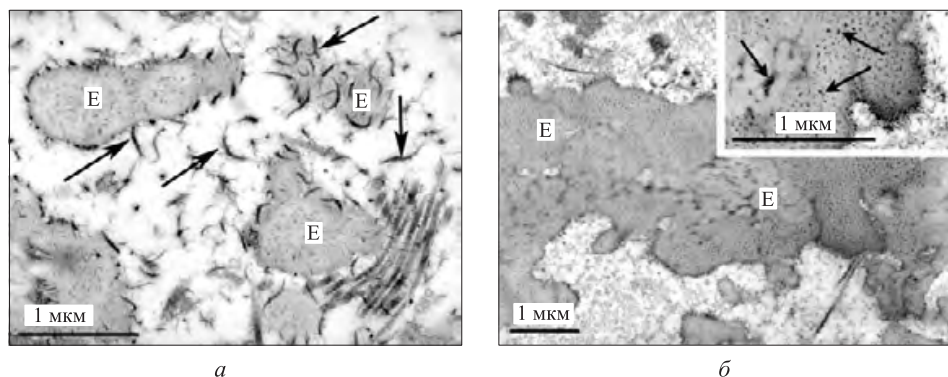


Рис. 10.7. Метод ПЭМ с применением цитохимических методов окрашивания позволяет наблюдать взаимодействие гликозаминогликанов с эластиновыми волокнами (Е) после ингибирования образования десмозиновых мостиков под действием латирогенов в аорте курицы (а) и в аорте человека с болезнью Менкеса (б). Цепи гликозаминогликанов (указаны стрелками) окрашивали альциановым синим (а) или толуидиновым синим (б и врезка), которые добавляли к фиксирующему раствору

при высушивании формируются в отдельные пучки (рис. 10.8, а) [12, 21]. Эти нити похожи на те, что видны на срезах эластинового волокна из вейной связки быка после длительной химической фиксации с тетраоксидом осмия (рис. 10.8, б и в). При 30 °С в присутствии гепаринсульфата (рис. 10.8, г) тропоэластин образует агрегаты, напоминающие те, что возникают и без гепаринсульфата и визуализируются при негативном окрашивании (сравните рисунки 10.8, а и 10.8, г). Однако, как следует из анализа срезов заключенных в связующее образцов (рис. 10.8, д и 10.8, е), в присутствии гепаринсульфата трехмерная сетка, образованная молекулами тропоэластина, оказывается более рыхлой. Таким образом, гепаринсульфат взаимодействует с молекулами тропоэластина и включается в коацерват. Более того, как показывают данные сканирующей калориметрии, он вызывает значительное понижение температуры коацервации тропоэластина [17].

Аналогичные результаты были получены Вейссом с соавторами [22]. Они обнаружили, что отрицательно заряженные гликозаминогликаны взаимодействуют с положительно заряженными остатками лизина в молекуле очищенного тропоэластина, способствуя коацервации тропоэластина; этот процесс зависит от температуры и концентрации вещества. Мешам с соавторами также наблюдали за взаимодействием тропоэластина с сульфатированными гликозаминогликанами и выдвинули предположение, что на сборку волокон эластина во внеклеточном матриксе может влиять наличие сульфатированных протеогликанов матрикса [14]. В частности, по некоторым данным, сульфатированные гликозаминогликаны на поверхности клеток, такие как связанные с плазматической мембраной гепаринсульфаты, связываются

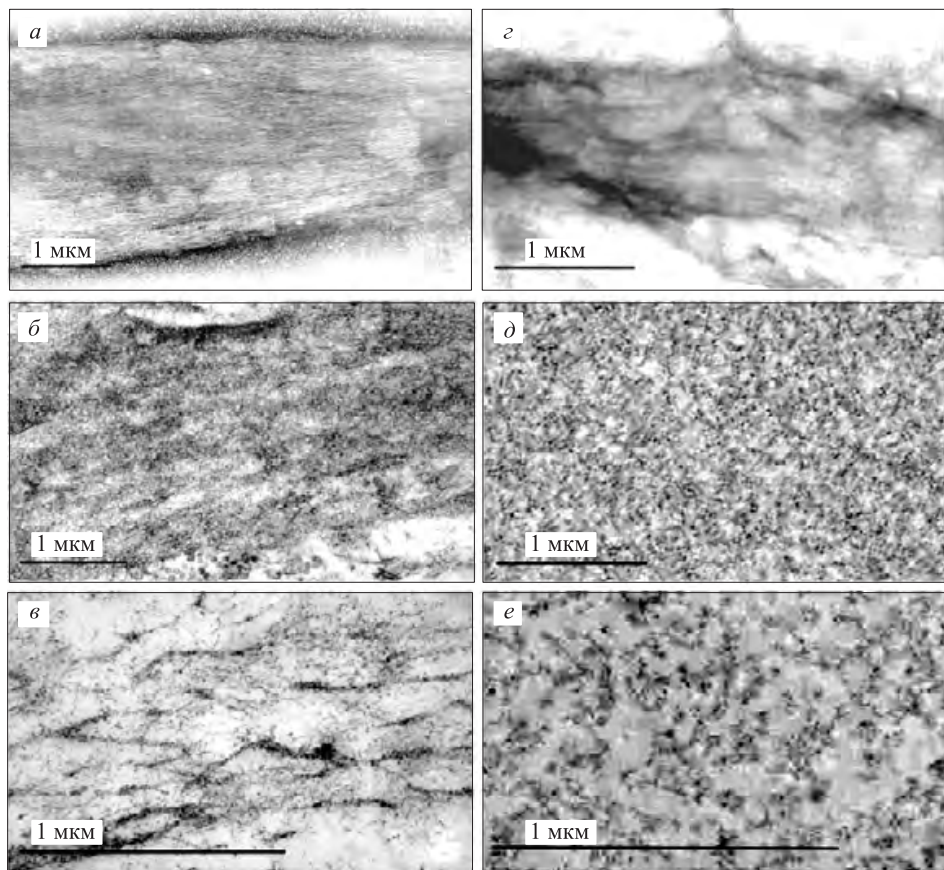


Рис. 10.8. Микрофотографии тропоэластина и эластина в разных экспериментальных условиях, полученные методом ПЭМ. При инкубации в физиологическом растворе при 35 °С очищенный тропоэластин образует организованные нити, визуализируемые с помощью негативного окрашивания (*а*). Аналогичные вытянутые и ориентированные нити эластина в эластиновых волокнах выйной связки быка можно увидеть после длительной фиксации с тетраоксидом осмия (*б* — 27 ч; *в* — 4 сут.) и включения материала в эпоксидную смолу. При добавлении гепаринсульфата к очищенному препарату тропоэластина наблюдается образование агрегатов, аналогичных тем, что представлены на *а*, но при более низкой температуре [16]. Если коацерваты очищенного тропоэластина, как на *а* и *г*, зафиксировать химическим путем и включить в эпоксидную смолу, выясняется, что гепаринсульфат вызывает образование более рыхлой сети (*е*) по сравнению с той, которая образуется без гликозаминогликана (*д*)

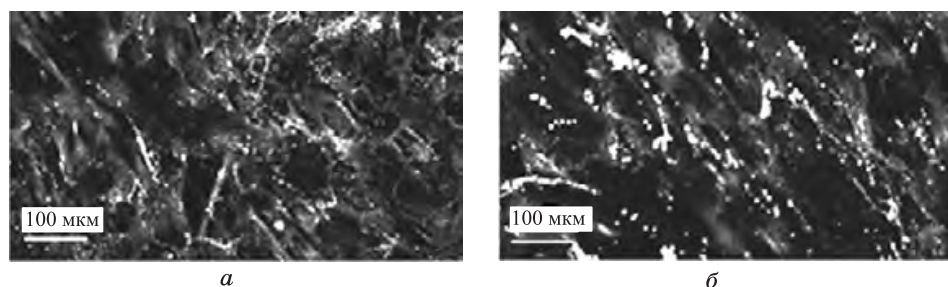


Рис. 10.9. Тропоэластин, образующийся *in vitro* в фибробластах кожи человека, визуализируемый с помощью специфических флуоресцентных поликлональных антител (белые пятна). Добавление в культуральную среду гепаринсульфата (*б*) способствует образованию более крупных и более многочисленных агрегатов эластина по сравнению с контролем (*а*)

с тропоэластином через карбоксильный конец белка [23], и это взаимодействие может быть опосредовано связанными с эластином микрофибриллами [24]. Таким образом, вне зависимости от их функции сульфатированные гликозаминогликаны, в частности гепаринсульфат, могут контактировать с тропоэластином в условиях *in vivo* и *in vitro*, и это следует учитывать при любых попытках использования полимеров на основе эластина для биологических целей и в различных устройствах.

Нами была проведена серия экспериментов, направленных на изучение влияния гепаринсульфата на образование и отложение эластиновых волокон человеческими фибробластами в культуре *in vitro*. Оказалось, что экзогенный гепаринсульфат не влияет на количество образующегося эластина, однако он вклинивается в организацию вновь синтезируемых эластиновых волокон, способствуя образованию агрегатов эластина, которые лишь позднее формировали реальные волокна (рис. 10.9) (неопубликованные данные). Аналогичным образом, Бучек-Томас с коллегами [23] показали, что удаление сульфатированных гликозаминогликанов с помощью фармакологических средств ослабляет включение тропоэластина во внеклеточный матрикс легочными фибробластами *in vitro*, что говорит о том, что сульфатированные протеоглики играют важнейшую роль в формировании внеклеточного матрикса и, в частности, в образовании сети из эластиновых волокон [25].

В условиях *in vitro* рекомбинантный тропоэластин человека можно превратить в эластин путем дезаминирования остатков лизина под действием бифункционального сшивающего агента бис(сульфосукцинимидил)суберата (BS^3). В молекуле тропоэластина содержится около 35 остатков лизина, которые могут образовывать внутри- и межмолекулярные поперечные сшивки (десмозины). Молекула BS^3 взаимодействует с аминогруппами и образует перекрестные сшивки между аминогруппами остатков лизина внутри одной молекулы и в соседних молекулах (рис. 10.10). Активными компонентами BS^3 являются NHS-эфир [3].

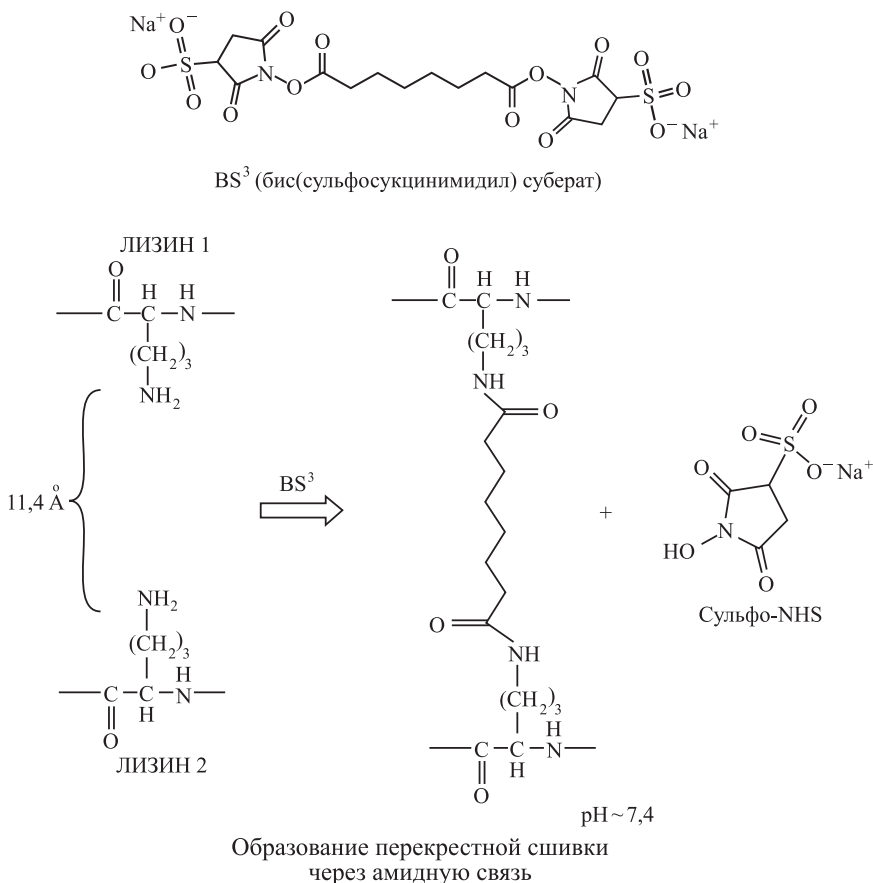


Рис. 10.10. Образование перекрестных сшивок при помощи BS³. В процессе коацервации между мономерами тропоэластина образовались перекрестные сшивки. Взято из статьи [3] с разрешения авторов

10.3. Полимеры, содержащие тропоэластин и его производные

10.3.1. Конформация и свойства

Специфическая организация эластина в виде последовательности чередующихся гидрофильных и гидрофобных доменов явилась причиной того, что многие исследователи заинтересовались изучением роли отдельных доменов в процессе сборки волокон, а также их взаимодействия с клетками и внеклеточными компонентами матрикса. Кроме того, были проанализированы конформационные характеристики доменов, которые позволяют понять упругие свойства целой молекулы в водном растворе. Группа Тамбурро синтезировала несколько пептидных производных эластина и проанализировала их свойства методами кругового

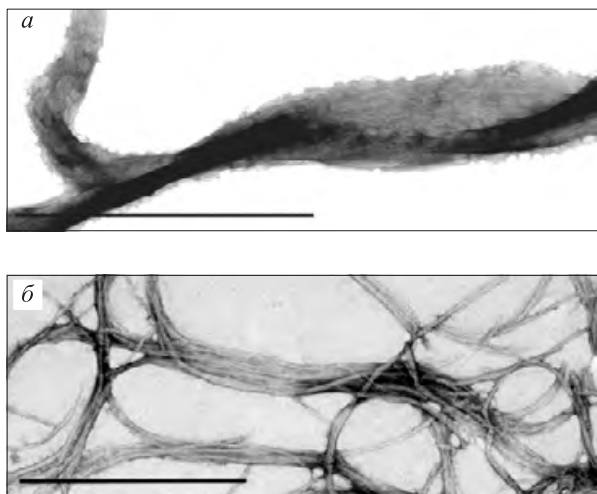


Рис. 10.11. Негативное окрашивание пептидов тропоэластина, инкубированных в физиологическом буфере при 50 °С. Пептид, соответствующий экзону 20 в последовательности гена эластина (а), образует пучки волокон, напоминающие пучки волокон целых молекул тропоэластина (рис. 10.8, а). Напротив, пептид, соответствующий экзону 30 (б), образует длинные и жесткие палочки

дихроизма (КД) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Выяснилось, что пептиды, соответствующие определенным доменам тропоэластина, обладают ярко выраженными физико-химическими свойствами и, в зависимости от условий среды, образуют различные агрегаты и надмолекулярные структуры [26–29].

На рисунке 10.11 отражены агрегационные свойства пептидов, кодируемых экзонами 20 (а) и 30 (б) гена эластина. Аминокислотная последовательность и физико-химические характеристики этих двух пептидов описаны Тамбурро с соавторами в гл. 9. Эти два пептида агрегируют совершенно различным образом. Пептид, соответствующий экзону 20, образует пучки волокон, аналогичные пучкам волокон целой молекулы тропоэластина [30], тогда как пептид, соответствующий экзону 30, образует отдельные длинные нити и амилоидоподобные структуры [31]. В процессе старения и при различных патологических состояниях эластин подвергается расщеплению протеазами, поэтому пептидные производные эластина могут проявлять подобные свойства в условиях *in vivo* и в зависимости от своей надмолекулярной организации могут вызывать различные физиологические реакции.

10.3.2. Взаимодействие с клетками и клеточными компонентами

Группа Юрри первой сообщила о биологической активности пептидных производных эластина и показала, что нонапептид Ala–Gly–Val–Pro–Gly–Phe–Gly–Val–Gly и гексапептид Val–Gly–Val–Ala–Pro–Gly,

последовательности которых несколько раз повторяются в молекуле эластина, обладают хемотаксическим действием по отношению к фибробластам, эндотелиальным клеткам сосудов и миоцитам [32–34]. Это означает, что в условиях *in vitro* клетки движутся в направлении увеличения концентрации этих пептидов.

Были проанализированы хемотаксические свойства нескольких гексапептидов и пентапептидов, соответствующих последовательности эластина, с целью выявления самого короткого и самого активного пептида, обладающего биологической активностью [35, 36]. Некоторые биологические молекулы обладают свойствами хемоаттрактантов для живых клеток *in vitro* и, скорее всего, также *in vivo*. Эти же вещества способны связываться с рецепторами на поверхности притягиваемых и мигрирующих клеток. Оказалось, что многие клетки имеют рецепторы для связывания эластина, тропоэластина и пептидных производных эластина, что может использоваться для захвата и расщепления эластина [37].

10.3.3. Биологическая активность тропоэластина и производных эластина

10.3.3.1. Пролиферация

Растворимые пептиды и пептидные производные эластина стимулируют пролиферацию мезенхимальных клеток, таких как клетки гладких мышц. Они взаимодействуют с мембранным эластин-связывающим белком с молекулярной массой 67 кДа и генерируют межклеточный сигнал, который, в конечном итоге, приводит к активации тирозинкиназ и циклин-зависимых киназ, что и вызывает пролиферацию клеток [38]. По-видимому, аналогичный механизм действует в клетках астроцитов, причем пролиферация опухолевых клеток может поддерживаться за счет экспрессии аномального эластина и связывания фрагментов эластина с рецепторами эластин-связывающего белка [39].

Такое патологическое действие пептидных производных эластина также наблюдалось в организме низших животных, таких как инфузии, которые не синтезируют эластин, но для которых пептидные фрагменты эластина выступают в качестве хемоаттрактантов и стимулируют пролиферацию [36].

10.3.3.2. Воспаление

Одним из наиболее важных моментов при создании нанобиокомпозигов, предназначенных для имплантации в живые организмы, является подтверждение того, что эти вещества не активируют воспалительный процесс и иммунный ответ организма. Данные процессы могут изменить состояние имплантированного материала и привести либо к его удерживанию в результате инкапсулирования, либо к отторжению.

Воспалительный процесс характеризуется привлечением и активацией макрофагов, образованием молекул, обладающих протеолитической активностью, и цитокинов, оказывающих стимулирующее дей-

ствие на макрофаги, лимфоциты и фибробласты. В свою очередь, протеолиз может приводить к расщеплению эластина на отдельные фрагменты [40]. В частности, воспалительный ответ, сопровождающий повреждение сосудов, связывают с действием пептидных производных эластина, образующихся в результате разрушения эластиновых волокон в ходе этого патологического процесса [41]. Эластиновые фрагменты со своей стороны вызывают иммунный ответ, сопровождающийся образованием антител и дальнейшим разрушением эластина. При изучении этих процессов выяснилось, что антитела против тропозеластина и против фрагментов α -эластина, образующихся при разрушении эластина, различаются между собой [42], стало также известно, что домены, имеющие перекрестные сшивки и не сшитые, по-разному влияют на образование антител [43].

Было показано, что такие простые пептидные производные эластина, как VGVAPG, VGVPD и VGAPG, обладают хемотаксической активностью, т. е. способствуют миграции макрофагов в направлении увеличения концентрации этих пептидов. Это перемещение клеток является достаточно избирательным, что говорит о наличии на клеточных мембранах моноцитов/макрофагов разных хемотаксических рецепторов для разных пептидов [35]. Та же исследовательская группа изучала хемотаксическое действие домена, закодированного на экзоне 26A. У здорового человека этот экзон не экспрессируется, но данный процесс запускается при некоторых патологических состояниях, например при повышенном артериальном давлении. Интересно, что хемотаксическая активность последовательности, закодированной эксоном 26A, по отношению к моноцитам/макрофагам зависела от конформации этой последовательности. Это наблюдение говорит о том, что биологическая активность пептидных фрагментов эластина в значительной степени определяется их структурной организацией [26, 44]. Домены, закодированные в том же экзоне 26A, также оказывают влияние на тонус сосудов, по-видимому, играя определенную роль в расширении сосудов [45]; заметим, что такое же действие оказывали пептиды Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly и Val-Gly-Val-Hyp-Gly [46]. Пептидные последовательности, типичные для молекулы эластина, были синтезированы химическим путем и модифицированы таким образом, чтобы усилить или ослабить их биологическую активность [47].

В целом пептидные фрагменты эластина вызывали целый ряд клеточных реакций — от высвобождения эластазы до образования свободных радикалов, окисления липопротеинов низкой плотности и образования холестерина [48–50]. В частности, было показано, что эти пептиды стимулируют образование ферментов типа эластазы в макрофагах [51] и фибробластах [40]. Однако не все пептидные фрагменты эластина вызывают одинаковый воспалительный ответ: какие-то из них способствуют более активному высвобождению свободных радикалов или эластазы или в большей степени усиливают кальциевый обмен, чем другие [51, 52]. Эти данные могут пригодиться в выборе конкретных доменов молекулы эластина для применения в определенных целях.

Недавно было показано, что пептидные фрагменты эластина (в концентрации, которая может достигаться при воспалительных реакциях) могут регулировать воспалительный ответ. В частности, эти пептиды могут взаимодействовать с моноцитами, приводя к снижению экспрессии таких провоспалительных цитокинов, как TNF- α , IL-1 β и IL-6. Напротив, те же самые пептиды не влияют на образование противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β [53]. Это означает, что некоторые пептидные фрагменты эластина могут оказывать противовоспалительное действие, и для получения ясности в вопросе, можно ли использовать эти фрагменты в составе биоконструктов или искусственных тканей, необходимо провести более детальное исследование влияния пептидных фрагментов эластина на воспалительную реакцию.

10.3.3.3. Плейотропная функция пептидных фрагментов эластина

Анализ множественного биологического действия пептидных фрагментов эластина показывает, что эластин и его производные могут играть роль в развитии рака (через пролиферацию клеток) и метастазировании опухолей (через миграцию клеток), а также в формировании воспалительного ответа и в процессе фиброза (через хемотаксис и активацию макрофагов и фибробластов). Была выдвинута гипотеза, что пептидные фрагменты эластина можно рассматривать в качестве так называемых матрикинов — молекулярных фрагментов/доменов, имеющих биологическую функцию и модулирующих передачу сигнала между несколькими типами клеток (аналогично цитокинам) [54]. Недавно было показано, что эластиновый гексапептид Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly защищает сердце от ишемических и реперфузионных повреждений путем ингибирования клеточных реакций, ведущих к гибели клеток [55].

Пептидные фрагменты эластина усиливают выработку мембраносвязанной металлопротеиназы proMT1-MMP, которая расщепляет внеклеточный матрикс и способствует неоваскуляризации тканей. Ангиогенное действие фрагментов эластина также может способствовать росту и метастазированию опухолей [56]. Это необходимо учитывать в тех случаях, когда в составе биоматериалов планируется использование эластина или его производных.

10.4. Применение полимеров на основе эластина

10.4.1. Нанодатчики

Интересное возможное применение пептидов на основе эластина связано с конформацией их молекул в водных растворах. Выраженная гидрофобность этих пептидов приводит к тому, что они принимают определенную конформацию в зависимости от внешних условий, таких как температура и ионный состав среды. Так, эластиноподобные полипептиды конъюгировали со свободным нитроксильным радикалом и использовали полученные соединения для определения изменений темпе-

ратуры как функции изменений спектра электронного парамагнитного резонанса конъюгата [57].

10.4.2. Системы доставки лекарственных препаратов

Как уже было сказано, производные эластина и эластиноподобные пептиды проявляют плеiotропность — множественность функций. Образую плотные или гелеобразные агрегаты, они узнаются рецепторами на клеточной поверхности, расщепляются макрофагами и внеклеточными ферментами, а также модулируют воспалительные реакции. Биологическая активность и физико-химические свойства этих веществ очень интересны, поэтому их активно синтезируют и пытаются использовать для различных целей [58]. В частности, следует упомянуть синтез сополимеров, состоящих их пептидов шелка и эластина, для направленной доставки лекарственных препаратов и ДНК [59]. Недавно с помощью генно-инженерных методов группа Хайдера синтезировала полимеры на основе белков шелка и эластина, которые образуют гидрогели с заданными физическими характеристиками [60]. Другие исследователи проанализировали влияние внешних условий на степень набухания и стабильность сополимеров шелка и эластина, чтобы контролировать состояние гидрогелей, использующихся в качестве систем доставки лекарственных препаратов [61, 62].

Производные эластина и эластиноподобные полипептиды применяются для образования комплексов с лекарствами с целью замедления расщепления и выведения из клетки активных компонентов лекарств. Интересно, что конъюгация пептидных производных эластина с доксорубицином (лекарством, применяющимся для борьбы с опухолевыми заболеваниями) дает двойное преимущество. Во-первых, пептиды эластина ингибируют выведение лекарства из опухолевых клеток, продлевая токсическое действие препарата на опухолевые клетки. Во-вторых, эти пептиды повышают концентрацию препарата в клетках благодаря своей способности образовывать гелеобразную структуру [63]. Более того, конъюгаты пептидов эластина с доксорубицином по-разному распределяются в различных клеточных компартментах, что представляет интерес с точки зрения борьбы с опухолевыми клетками [64].

Используя генно-инженерный подход, можно получить мозаичные белки, направленно воздействующие на разные клеточные мишени. Пептидные производные эластина, способные к коацервации при повышении температуры, связывали с tat-белком вируса ВИЧ-1, чтобы усилить захват клетками токсичного производного доксорубицина. Этот комплекс гораздо активнее уничтожал клетки саркомы матки, чем просто лекарственное средство [65]. По-видимому, большая эффективность комплекса обусловлена несколькими причинами: с его более активным захватом клетками за счет присутствия вирусного белка tat, с более медленным выведением из клеток из-за наличия эластинового фрагмента и с более высокой концентрацией токсичного вещества, объясняющейся коацервацией эластиновых фрагментов при нормальной для тела температуре [58, 61].

10.4.3. Матрицы для тканевой инженерии

Для индукции дифференцировки клеток и создания специализированных искусственных тканей используют природные матрицы, которые засевают мезенхимальными клетками различной природы в присутствии факторов роста [66]. С этой целью широко применяют такие богатые эластином природные матрицы, как ткань сердечного клапана или сосудистой стенки. Стоит отметить, что часто эти эксперименты оказываются безуспешными из-за кальцификации (окаменения) эластичного компонента имплантированной ткани [67]. Было показано, что тропоэластин или некоторые продукты его расщепления могут ингибировать осаждение кальция: снижение кальцификации наблюдалось при добавлении растворимого рекомбинантного тропоэластина или пептида VGVAPG в условиях *in vitro* к системе, созданной для изучения механизмов осаждения кальция в волокнах эластина [68]. Однако процесс кальцификации довольно сложный, и в условиях *in vivo* он контролируется специфическими ингибиторами, такими как матричный Gla-белок и фетуин [69], экспрессия и содержание которых также регулируются различными механизмами [70].

Производные эластина показывают хорошие результаты, поскольку созданные на их основе белковые полимеры характеризуются хорошей биосовместимостью и способностью к самоорганизации [71]. Более того, методы генетической инженерии позволяют получать белки с заданными физическими, химическими и биологическими свойствами. В частности, последовательности эластина сами по себе и в сочетании с другими белковыми рядами использовались для получения химерных белков с определенной структурой и функцией [72, 73]. Метод позволяет синтезировать белки, объединяющие свойства разных молекул. Например, в одной молекуле белка можно соединить гидрофобный домен тропоэластина, обладающий упругостью и способностью к самоорганизации, богатые аланином и лизином домены для образования перекрестных сшивок, а также адгезионный домен на основе фибронектина для связывания клеток с полимером [74].

Сегодня область исследований, связанная с созданием полифункциональных и биосовместимых материалов, развивается чрезвычайно активно, и за последнее время было опубликовано несколько теоретических и экспериментальных работ, посвященных изучению и применению полимерных материалов и тканей, содержащих фрагменты эластина [75, 76].

Одним из наиболее широко применяемых материалов в области тканевой инженерии является полимолочная кислота (ПМК). Взаимодействие между клетками и поверхностью ПМК можно улучшить, если покрыть поверхность полимера белковой пленкой, обладающей способностью связывать специфические типы клеток. Например, в работе [77] было показано, что покрытие из фиброина шелка улучшает адгезию, пролиферацию и дифференцировку остеобластов на поверхности ПМК. Кроме того, покрытие из пептидных производных эластина на поверхности полиэтиленгликольтерефталата улучшает пролиферацию и экс-

прессию эндотелиальных клеток по сравнению с той же системой без эластинового компонента [76].

Несколько исследований было посвящено определению характеристик перекрестно сшитых полимеров, главным образом, состоящих из коллагена, но с включением эластина и других компонентов внеклеточного матрикса. В большинстве этих исследований эластин и его фрагменты добавляли с целью повысить упругость и пластичность материала, а гликозаминогликаны — для улучшения способности матрицы связывать воду [78]. Основной целью данных исследований было получение биоматериалов с контролируемыми химическими, физическими и биологическими характеристиками, к тому же еще и максимально имитирующих природные матрицы и ткани. Важнейшую роль в этих экспериментах играет пористость матрицы, поскольку клетки должны иметь возможность делиться, перемещаться и ориентироваться внутри нее [79].

Кроме проблемы, связанной с химической природой и структурной организацией полимера, существует еще одна серьезная проблема, связанная со стандартизацией промышленного производства подобных материалов и условий процесса культивирования клеток. Методом электропрядения из смеси коллагена и эластина, стабилизированных перекрестными сшивками из N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида и N-гидроксисукцинимидом, с использованием вращающегося трубчатого коллектора были получены биоматериалы с высокой термостойкостью, на которых удалось вырастить конфлюэнтный (непрерывный) слой гладкомышечных клеток [79, 80]. Этот тип матриц, возможно, удастся использовать для создания искусственных сосудов.

Наличие эластина и пептидных фрагментов эластина также играет важную роль в искусственных тканях, предназначенных для восстановления кожи после ранений и ожогов. Учитывая низкий уровень экспрессии гена эластина при естественном заживлении ран [81], эластин является подходящим компонентом для создания биоматериалов, использующихся для заживления ран с помощью методов тканевой инженерии. Подкожное введение солюбилизованного эластина, включенного в нерастворимую трехмерную коллагеновую матрицу, стимулировало ангиогенез и образование эластиновых волокон у молодых крыс. Это было продемонстрировано с помощью иммунного окрашивания срезов имплантированного материала и с применением специфических антител к коллагену типа IV. Было выявлено образование базальной мембраны сосудов, а также двух основных компонентов эластиновых волокон — эластина и фибриллина-1 [82].

Кроме того, синтез эластина можно ускорить с помощью факторов роста и цитокинов, которые стимулируют пролиферацию и дифференцировку клеток, синтезирующих компоненты внеклеточного матрикса. Сейлс с соавторами индуцировали образование коллагена и эластина предшественниками эндотелиальных клеток, высеянных в матрице из системы полигликолевая кислота/поли-3-гидроксibuтират, путем добавления TGF- β 1 [83].

10.4.4. Модель воссоздания кожной ткани

Следует отметить, что интерес представляет создание не только матриц, содержащих эластин и пептидные производные эластина, но и матриц, в которых непосредственно происходит синтез эластина и отложение эластиновых волокон. Как уже отмечалось выше, в организме взрослых людей синтеза и обновления эластина не происходит. Более того, в экспериментах *in vitro* и в процессе заживления ран фибробласты и гладкомышечные клетки синтезируют очень мало эластина [81]. Было бы замечательно найти эффективный способ индукции образования эластиновых волокон клетками, населяющими искусственную матрицу. Это позволило бы создать искусственные ткани для замены поврежденных сосудов, кожи и других эластичных тканей.

Рассмотрим в качестве примера модель эквивалента кожи. Фибробласты могут расти в трехмерной матрице, состоящей из коллагена, хитозана и гликозаминогликанов [84]. Они заселяют полимер и начинают производить молекулы внеклеточного матрикса, включая коллаген. Если спустя три недели на верхнюю поверхность искусственной дермы высеять кератиноциты и выращивать их на границе раздела жидкость/воздух еще на протяжении пяти или шести недель, то во внеклеточном матриксе, образованном фибробластами, начинают появляться эластиновые волокна (рис. 10.12). Это означает, что взаимодействие между кератиноцитами и фибробластами играет важную роль в индукции экспрессии эластина и связанных с ним белков, таких как лизилоксидаза и ей подобных, которые необходимы для организации и созревания сети эластиновых волокон [85, 86].

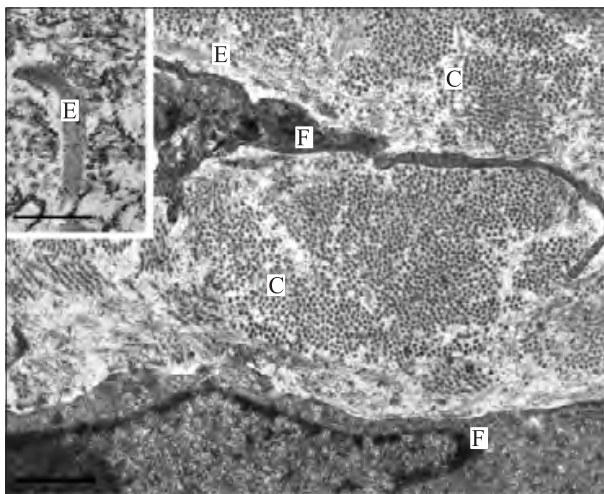


Рис. 10.12. ПЭМ-изображение внеклеточного матрикса, образованного фибробластами кожи человека в матрице из хитозана и гликозаминогликанов, покрытой слоем кератиноцитов. В результате взаимодействия между фибробластами (F) и кератиноцитами происходит отложение аморфных эластиновых волокон (E) между пучками коллагена (C)

10.5. Заключение

Тропоэластин, эластин и пептидные фрагменты эластина являются весьма перспективными молекулами для создания новых биоматериалов. Нетипичная структура и характерные физико-химические свойства тропоэластина, связанные с чередованием гидрофобных и гидрофильных доменов, позволяют использовать эту молекулу, а также ее отдельные фрагменты, для решения различных специфических задач. В частности, такие свойства некоторых фрагментов тропоэластина, как эластичность, способность к самоорганизации, взаимодействие с клетками, синтетическими полимерами и компонентами внеклеточного матрикса, позволяют использовать их для активации метаболических процессов. Применение пептидных фрагментов эластина для создания матриц в области тканевой инженерии предоставляет широкие и еще не до конца осознанные возможности. Кроме того, гидрогели на основе этих полимеров могут использоваться для доставки в клетки ДНК и лекарств, что открывает новые возможности противоопухолевой терапии.

Благодарности

Данные исследования были проведены благодаря финансовой поддержке со стороны Министерства образования Италии и грантам Евросоюза (Telastar, Geneskin и Elastage).

Литература

1. Vrhovski, B., Weiss, A.S. 1998. Biochemistry of tropoelastin. *Eur. J. Biochem.* 258: 1–18.
2. Mithieux, S.M., Rasko, J.E.J., Weiss, A.S. 2004. Synthetic elastin hydrogels derived from massive elastic assemblies of self-organized human protein monomers. *Biomaterials* 25: 4921–4927.
3. Wise, S.G., Mithieux, S.M., Raftery, M.J., Weiss, A.S. 2005. Specificity in the coacervation of tropoelastin: Solvent exposed lysines. *J. Struct. Biol.* 149: 273–281.
4. Mecham, R.P., Heuser, J.E. 1991. The elastic fiber (Chapter 3). In *Cell Biology and Extracellular Matrix*, 2nd edition. Hay, E.D., Ed., Plenum Press, New York, pp. 79–110.
5. Muiznieks, L.D., Jensen, S.A., Weiss, A.S. 2003. Structural changes and facilitated association of tropoelastin. *Arch. Biochem. Biophys.* 410: 317–323.
6. Pasquali-Ronchetti, I., Baccarani-Contrì, M. 1997. Elastic fiber during development and aging. *Microsc. Res. Tech.* 38: 428–435.
7. Pasquali-Ronchetti, I., Fornieri, C., Baccarani-Contrì, M., Quaglini, D. 1995. Ultrastructure of elastin. *Ciba. Found. Symp.* 192: 31–42; discussion 42–50.

8. Pasquali-Ronchetti, I., Fornieri, C., Baccarani-Contri, M., Volpin, D. 1979. The ultrastructure of elastin revealed by freeze-fracture electron microscopy. *Micron* 10: 89–99.
9. Fornieri, C., Pasquali-Ronchetti, I., Edman, A.C., Sjöström, M. 1982. Contribution of cryotechniques to the study of elastin ultrastructure. *J. Microsc.* 126: 87–93.
10. Pasquali-Ronchetti, I., Alessandrini, A., Baccarani-Contri, M., Fornieri, C., Mori, G., Quaglino, D., Valdr, U. 1998. The elastic fiber organization by scanning force microscopy. *Matrix Biol.* 17: 75–83.
11. Cox, B.A., Starcher, B.C., Urry, D.W. 1974. Coacervation of tropoelastin results in fiber formation. *J. Biol. Chem.* 249: 997–998.
12. Bressan, G.M., Pasquali-Ronchetti, I., Fornieri, C., Mattioli, F., Castellani, I., Volpin, D. 1986. Relevance of aggregation properties of tropoelastin to the assembly and structure of elastin fibers. *J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res* 94: 209–216.
13. Urry, D.W., Long, M.M. 1977. On the conformation, coacervation and function of polymeric models of elastin. *Adv. Exp. Med. Biol.* 79: 685–714.
14. Kozel, B.A., Ciliberto, C.H., Mecham, R.P. 2004. Deposition of tropoelastin into the extracellular matrix requires a competent elastic fiber scaffold but not live cells. *Matrix Biol.* 23: 23–34.
15. Hirai, M., Horiguchi, M., Ohbayashi, T., Kita, T., Chien, K.R., Nakamura, T. 2007. Latent TGF-beta-binding protein 2 binds to DANCE/fibulin-5 and regulates elastic fiber assembly. *EMBO J.* 26: 3283–3295.
16. Baccarani Contri, M., Vincenzi, D., Cicchetti, F., Mori, G., Pasquali-Ronchetti, I. 1990. Immunochemical localization of proteoglycans within normal elastin fibre. *Eur. J. Cell. Biol.* 53: 305–312.
17. Gheduzzi, D., Guerra, D., Boichichio, B., et al. 2005. Heparan sulphate interacts with tropoelastin, with some tropoelastin peptides and is present in human dermis elastic fibers. *Matrix Biol.* 24: 15–25.
18. Baccarani-Contri, M., Fornieri, C., Pasquali-Ronchetti, I. 1985. Elastin proteoglycans association revealed by cytochemical methods. *Connect Tissue Res.* 13: 237–249.
19. Fornieri, C., Baccarani-Contri, M., Quaglino, D., Pasquali-Ronchetti, I. 1987. Lysyl oxidase activity and elastin-glycosaminoglycans interactions in growing chick and rat aortas. *J. Cell. Biol.* 105: 1463–1469.
20. Pasquali-Ronchetti, I., Baccarani-Contri, M., Young, R.D., Vogel, A., Steinmann, B., Royce, P.M. 1994. Ultrastructural analysis of skin and aorta from a patient with *Menkes disease*. *Exp. Mol. Pathol.* 61: 36–57.
21. Volpin, D., Pasquali-Ronchetti, I. 1977. The ultrastructure of high-temperature coacervates from elastin. *J. Ultrastruct Res.* 61: 295–302.

22. Wu, W.J., Vrhovski, B., Weiss, A.S. 1999. Glycosaminoglycans mediate the coacervation of human tropoelastin through dominant charge interactions involving lysine side chains. *J. Biol. Chem.* 274: 21719–21724.
23. Broekelmann, T.J., Kozel, B.A., Ishibashi, H., et al. 2005. Tropoelastin interacts with cell-surface glycosaminoglycans via its COOH-terminal domain. *J. Biol. Chem.* 280: 40939–40947.
24. Cain, S.A., Baldock, C., Gallagher, J., et al. 2005. Fibrillin-1 interactions with heparin. Implications for microfibril and elastic fiber assembly. *J. Biol. Chem.* 280: 30526–30537.
25. Buczek-Thomas, J.A., Chu, C.L., Rich, C.B., Stone, P.J., Foster, J.A., Nugent, M.A. 2002. Heparan sulphate depletion within pulmonary fibroblasts: Implications for elastogenesis and repair. *J. Cell. Physiol.* 192: 294–303.
26. Bisaccia, F., Castiglione-Morelli, M.A., Spisani, S., et al. 1998. The amino acid sequence coded by the rarely expressed exon 26° of human elastin contains a stable beta-turn with chemotactic activity for monocytes. *Biochemistry* 37: 11128–11135.
27. Tamburro, A.M., Bochicchio, B., Pepe, A. 2003. Dissection of human tropoelastin: Exon-by exon chemical synthesis and related conformational studies. *Biochemistry* 2: 13347–13362.
28. Tamburro, A.M., Bochicchio, B., Pepe, A. 2005. The dissection of human tropoelastin: From the molecular structure to the self-assembly to the elasticity mechanism. *Pathol. Biol.* 53: 383–389.
29. Tamburro, A.M., Pepe, A., Bochicchio, B. 2006. Localizing alpha-helices in human tropoelastin: Assembly of the elastin puzzle. *Biochemistry* 45: 9518–9530.
30. Pepe, A., Guerra, D., Bochicchio, B., Quaglino, D., Pasquali-Ronchetti, I., Tamburo, A.M. 2005. Dissection of human tropoelastin self-assembly: upramolecular organization of polypeptide sequences coded by particular exons. *Matrix Biol.* 24: 96–109.
31. Tamburro, A.M., Pepe, A., Bochicchio, B., Quaglino, D., Pasquali-Ronchetti, I. 2005. Supramolecular, amyloid-like organization of the polypeptide sequence coded by Exon 30 of human tropoelastin. *J. Biol. Chem.* 280: 2682–2690.
32. Senior, R.M., Griffin, G.L., Mecham, R.P., Wrenn, D.S., Prasad, K.U., Urry, D.W. 1984. Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly, a repeating peptide in elastin, is chemotactic for fibroblasts and monocytes. *J. Cell. Biol.* 99: 870–874.
33. Long, M.M., King, V.J., Prasad, K.U., Urry, D.W. 1988. Chemotaxis of fibroblasts toward nonapeptide of elastin. *Biochim. Biophys. Acta.* 968: 300–311.
34. Long, M.M., King, V.J., Prasad, K.U., Freeman, B.A., Urry, D.W. 1989. Elastin repeat peptides as chemoattractants for bovine aortic endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* 140: 512–518.

35. Castiglione-Morelli, M.A., Bisaccia, F., Spisani, S., De Blasi, M., Traniello, S., Tamburro, A.M. 1997. Structure-activity relationships for some elastin-derived peptides chemoattractants. *J. Pept. Res.* 49: 492–499.
36. Kohidai, L., Kun, L., Eva, P., et al. 2004. Cell-physiological effects of elastin derived (VGVPAG)_n oligomers in a unicellular model system. *J. Pept. Sci.* 10: 427–438.
37. Jung, S., Hinek, A., Tsugu, A., et al. 1999. Astrocytoma cell interaction with elastin substrates: Implications for astrocytoma invasive potential. *Glia.* 25: 179–189.
38. Mochizuki, S., Brassart, B., Hinek, A. 2002. Signaling pathways transduced through the elastin receptor facilitate proliferation of arterial smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* 277: 44854–44863.
39. Jung, S., Rutka, J.T., Hinek, A. 1998. Tropoelastin and elastin degradation products promote proliferation of human astrocytoma cell lines. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 57: 439–448.
40. Gminski, J., Weglarz, L., Drozd, M., Sulkowski, P., Goss, M. 1991. Modulation of elastase-like activity in fibroblasts stimulated with elastin peptides. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 45: 254–257.
41. Hance, K.A., Tataria, M., Ziporin, S.J., Lee, J.K., Thompson, R.W. 2002. Monocyte chemotactic activity in human abdominal aortic aneurisms: Role of elastin degradation peptides and the 67-kDa cell surface elastin receptor. *J. Vasc. Surg.* 35: 254–261.
42. Daynes, R.A., Thomas, M., Alvarez, V.L., Sandberg, L.B. 1977. The antigenicity of soluble porcine elastins: I. Measurement of antibody by a radioimmunoassay. *Connect. Tissue Res.* 5: 75–82.
43. Mecham, R.P., Lange, G. 1982. Antigenicity of elastin: Characterization of major antigenic determinants on purified insoluble elastin. *Biochemistry.* 21: 669–673.
44. Maeda, I., Mizoiri, N., Briones, M.P., Okamoto, K. 2007. Induction of macrophage migration through lactose-insensitive receptor by elastin-derived nonapeptides and their analog. *J. Pept. Sci.* 13: 263–268.
45. Ostuni, A., Lograno, M.D., Gasparro, A.M., Bisaccia, F., Tamburro, A.M. 2002. Novel properties of peptides derived from the sequence coded by exon 26A of human elastin. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 34: 130–135.
46. Lograno, M.D., Bisaccia, F., Ostuni, A., Daniele, E., Tamburro, A.M. 1998. Identification of elastin peptides with vasorelaxant activity on rat thoracic aorta. *Int. J. Biochem. Cell. Physiol.* 30: 497–503.
47. Bisaccia, F., Morelli, M.A., DeBiasi, M., Traniello, S., Spisani, S., Tamburro, A.M. 1994. Migration of monocytes in the presence of elastolytic fragments of elastin and in synthetic derivatives. Structure-activity relationships. *Int. J. Pept. Protein Res.* 44: 332–341.

48. Fulop, T. Jr., Jacob, M.P., Khalil, A., Wallach, J., Robert, L. 1998. Biological effects of elastin peptides. *Pathol. Biol. (Paris)*. 46: 497–506.
49. Fulop, T. Jr., Larbi, A.A., Robert, L., Khalil, A. 2005. Elastin peptide induced oxidation of LDL by phagocytic cells. *Pathol. Biol. (Paris)*. 53: 416–423.
50. Antonicelli, F., Bellon, G., Debelle, L., Hornebeck, W. 2007. Elastin-elastases and inflammation-aging. *Curr. Top. Dev. Biol.* 79: 99–155.
51. Hauck, M., Seres, I., Kiss, I., et al. 1995. Effects of synthesized elastin peptides on human leukocytes. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 37: 45–55.
52. Gminski, J., Weglarz, L., Drozd, M., Goss, M. 1991b. Pharmacological modulation of the antioxidant enzyme activities and the concentration of peroxidation products in fibroblasts stimulated with elastin peptides. *Gen. Pharmacol.* 22: 495–497.
53. Baranek, T., Debret, R., Antonicelli, F., et al. 2007. Elastin receptor (spliced galactosidase) occupancy by elastin peptides counteracts pro-inflammatory cytokine expression in lipopolysaccharide-stimulated human monocytes through NF-kappaB down regulation. *J. Immunol.* 179: 6184–6192.
54. Duca, L., Floquet, N., Alix, A.J., Haye, B., Debelle, L. 2004. Elastin as a matrikine. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 49: 235–244.
55. Robinet, A., Millart, H., Oszust, F., Hornebeck, W., Bellon, G. 2007. Binding of elastin peptides to S-Gal protects the heart against ischemia/reperfusion injury by triggering the RISK pathway. *FASEB J.* 21: 1968–1978.
56. Robinet, A., Fahem, A., Cauchard, J.H., et al. 2005. Elastin-derived peptides enhance angiogenesis by promoting endothelial cell migration and tubulogenesis through upregulation of MT1-MMP. *J. Cell. Sci.* 118: 343–356.
57. Dreher, M.R., Elas, M., Ichikawa, K., et al. 2004. Nitroxide conjugate of a thermally responsive elastin-like polypeptide for noninvasive thermometry. *Med. Phys.* 31: 2755–2762.
58. Chilkoti, A., Dreher, M.R., Meyer, D.E., Raucher, D. 2002. Targeted drug delivery by thermally responsive polymers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 613–630.
59. Megeed, Z., Cappello, J., Ghandehari, H. 2002. Genetically engineered silk-elastinlike protein polymers for controlled drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 1075–1091.
60. Haider, M., Leung, V., Ferrari, F., et al. 2005. Molecular engineering of silk-elastinlike polymers for matrix-mediated gene delivery: Biosynthesis and characterization. *Mol. Pharm.* 2: 139–150.
61. Meyer, D.E., Kong, G.A., Dewhirst, M.W., Zalutsky, M.R., Chilkoti, A. 2001. Targeting a genetically engineered elastin-like polypeptide to solid tumors by local hyperthermia. *Cancer Res.* 61: 1548–1554.

62. Dinerman, A.A., Cappello, J., Ghandehari, H., Hoag, S.W. 2002. Swelling behavior of a genetically engineered silk-elastinlike protein polymer hydrogel. *Biomaterials* 23: 4203–4210.
63. Bidwell, G.L., 3rd, Fokt, I., Priebe, W., Raucher, D. 2007a. Development of elastin-like polypeptide for thermally targeted delivery of doxorubicin. *Biochem. Pharmacol.* 73: 620–631.
64. Dreher, M.R., Raucher, D., Balu, N., Michael-Colvin, O., Lude-man, S.M., Chilkoti, A. 2003. Evaluation of an elastin-like polypeptide-doxorubicin conjugate for cancer therapy. *J. Control. Release.* 91: 31–43.
65. Bidwell, G.L., 3rd, Davis, A.N., Fokt, I., Priebe, W., Raucher, D. 2007. A thermally targeted elastin-like polypeptide-doxorubicin conjugate overcomes drug resistance. *Invest. New Drugs.* 25: 313–326.
66. Narine, K., De Wever, O., Van Valckenborgh, D., et al. 2006. Growth factor modulation of fibroblast proliferation, differentiation, and invasion: Implication for tissue valve engineering. *Tissue Eng.* 12: 2707–2716.
67. Paule, W.J., Bernick, S.B., Nimni, M.E. 1992. Calcification of implanted vascular tissues associated with elastin in an experimental animal model. *J. Biomed. Mater. Res.* 26: 1169–1177.
68. Wachi, H., Sugitani, H., Murata, H., Nakazawa, J., Mecham, R.P., Seyama, Y. 2004. Tropoelastin inhibits vascular calcification via 67-kDa elastin binding protein in cultured bovine aortic smooth muscle cells. *J. Atheroscl. Thromb.* 11: 159–166.
69. Fiore, C.E., Celotta, G., Politi, G.G., et al. 2007. Association of high alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin concentration in serum and intima-media thickness in patients with atherosclerotic vascular disease and low bone mass. *Atherosclerosis* 195: 110–115.
70. Gheduzzi, D., Boraldi, F., Annovi, G., et al. 2007. Matrix Gla Protein (MGP) in Pseudoxanthoma Elasticum (PXE) and in genetic disorders with PXE-like clinical manifestations. *Lab. Invest.* 87: 998–1008.
71. Arias, F.J., Remoto, W., Martin, S., Lopez, I., Rodriguez-Cabello, J.C. 2006. Tailored recombinant elastin-like polymers for advanced biomedical and nano(bio)technological applications. *Biotechnol. Lett.* 28: 687–695.
72. Rodriguez-Cabello, J.C. 2004. Smart elastin-like polymers. *Adv. Exp. Med. Biol.* 553: 45–57.
73. Rodriguez-Cabello, J.C., Prieto, S., Arias, F.J., Reguera, J., Ribeiro, A. 2006. Nanobiotechnological approach to engineered biomaterial design: The example of elastin-like polymers. *Nanobiomed.* 1: 267–280.
74. Girotti, A., Reguera, J., Rodriguez-Cabello, J.C., Arias, F.P., Alonso, M., Matestera, A. 2004. Design and bioproduction of a recombinant multi(bio)functional elastin-like protein polymer containing cell adhesion sequences for tissue engineering purposes. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 15: 479–484.

75. Dutoya, S., Levebvre, F., Deminires, C., et al. 1998. Unexpected original property of elastin-derived proteins: Spontaneous tight coupling with natural and synthetic polymers. *Biomaterials* 19: 147–155.
76. Dutoya, S., Verna, A., Lefebvre, F., Rabaud, M. 2000. Elastin-derived protein coating onto poly(ethylene terephthalate). Technical, microstructural and biological studies. *Biomaterials* 21: 1521–1529.
77. Cai, K., Yao, K., Lin, S., et al. 2002. Poly(D,L-lactic acid) surfaces modified by silk fibroin: Effects on the culture of osteoblast in vitro. *Biomaterials* 23: 1153–1160.
78. Daamen, W.F., Van Moerkerk, H.T., Hafmans, T., et al. 2003. Preparation and evaluation of molecularly-defined collagen-elastin-glycosaminoglycan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 24: 4001–4009.
79. Buttafoco, L., Kolkman, N.G., Engbers-Buijtenhuijs, P., et al. 2006. Electrospinning of collagen and elastin for tissue engineering applications. *Biomaterials* 27: 724–734.
80. Davidson, J.M., Giro, G.M., Quaglino, D. 1992. Elastin repair. In Wound Healing. Cohen, I.K., Diegelman, R., and Lindblad, W., Eds., Saunders, Baltimore, pp. 223–236.
81. Engbers-Buijtenhuijs, P., Buttafoco, L., Poot, A.A., et al. 2006. Biological characterization of vascular grafts cultured in a bioreactor. *Biomaterials* 27: 2390–2397.
82. Daamen, W.F., Nillesen, S.T., Wismans, R.G., Reinhardt, D.P., Hafmans, T., Veerkamp, J.H., Van Kuppevelt, T.H. 2008. A biomaterial composed of collagen and solubilized elastin enhances angiogenesis and elastic fiber formation without calcification. *Tissue Eng. Part A* 14: 349–360.
83. Sales, V.L., Engelmayr, G.C. Jr., Mettler, B.A., Johnson, J.A. Jr., Sacks, M.S., Mayer, J.E. Jr. 2006. Transforming growth factor-beta1 modulates extracellular matrix production, proliferation and apoptosis of endothelial progenitor cells in tissue-engineering scaffolds. *Circulation* 114: 1193–1199.
84. Shahabeddin, L., Berthod, F., Damour, O., Collombel, C. 1990. Characterization of skin reconstructed on a chitosan-cross-linked collagen-glycosaminoglycan matrix. *Skin Pharmacol.* 3: 107–114.
85. Duplan-Perrat, F., Damour, O., Montrocher, C., et al. 2000. Keratinocytes influence the maturation and organization of the elastin network in a skin equivalent. *J. Invest. Dermatol.* 114: 365–370.
86. Noblesse, E., Cenizo, V., Bouez, C., et al. 2004. Lysyl oxidase-like and lysyl oxidase are present in the dermis and epidermis of a skin equivalent and in human skin and are associated to elastic fibers. *J. Invest. Dermatol.* 122: 621–630.

БИО- И НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

Йоханнес Ганстер и Ганс-Петер Финк

*Институт прикладных полимерных исследований
имени Фраунхофера, Германия*

11.1. Введение

Полимолочная кислота (ПМК) [1] — один из важнейших биоразлагаемых и термопластичных биополимеров, производимых в настоящее время в промышленном масштабе. Основные производства ПМК сосредоточены в США (Nature Works, Миннетонка, штат Миннесота) и в Азии (Unitika, Mitsui Chemicals, Япония), а с 2011 г. — и в Германии (город Губен), где новый завод должен ежегодно выпускать более 60 000 тонн ПМК. Основной промышленный метод получения этого полимера заключается в раскрытии цикла и полимеризации дилактида, образующегося в процессе ферментации кукурузного крахмала. На рисунке 11.1 изображены три стереоизомера дилактида — *L*-лактид, *D*-лактид и мезоформа.

Большинство полимеров получают из *L*-лактида разной степени чистоты, так что в образующейся макромолекуле содержится определенная доля мезоформы лактида. Это сказывается на способности полимера к кристаллизации, его механических свойствах, пониженных температурах стеклования и плавления и повышенной способности разлагаться в биологических условиях. В аморфном состоянии ПМК представляет собой прозрачное вещество, которое своей жесткостью и низкой сопротивляемостью удару напоминает немодифицированный полистирол.

Традиционно ПМК и сополимеры молочной кислоты использовались, главным образом, в сфере медицины (имплантаты, швы и др.) [2], в качестве упаковочного материала, в том числе для пищевых про-



Рис. 11.1. Стереоизомеры дилактида

дуктов (пленки, подносы, контейнеры и др.) [3, 4], и в сельском хозяйстве (пленки для мульчирования, мешки и др.) [5]. С целью улучшения свойств материала и его применения для изготовления товаров более длительного пользования в полимеры ПМК добавляют различные армирующие волокна и другие наполнители, включая наночастицы. Понятно, что наибольший интерес представляют такие армирующие волокна, которые созданы на основе биологических веществ и разлагаются в биологических условиях, поскольку они позволяют получить экологически безопасные композиты, полностью состоящие из возобновляемого сырья.

В разделе 11.2 мы рассмотрим результаты исследований, направленных на улучшение свойств ПМК путем включения волокон лигноцеллюлозы (как из многолетних, так и из однолетних растений) и искусственных целлюлозных волокон (таких как вискоза). В частности, будут представлены результаты работы нашей исследовательской группы, посвященные использованию волокон из термомеханической древесной массы и вискозы, которые сравниваются с результатами исследований других научных групп. Основное внимание уделено механическим свойствам композитов, полученным из расплавов, поскольку этот способ является основным способом промышленного получения полимеров, позволяющим избежать проблем, связанных с использованием растворителей.

В разделе 11.2 рассмотрен альтернативный подход к созданию армированных полимеров, заключающийся в применении наноматериалов. Наполнители, используемые в данном подходе, обычно не разлагаются в биологических условиях (за исключением наночастиц целлюлозы), однако для изменения свойств полимера часто бывает достаточно малых добавок таких веществ. В приведенном в этом же разделе обзоре современной литературы проанализированы механические и термомеханические свойства полимеров. Наконец, в заключение проведен сравнительный анализ методов армирования полимеров на микро- и наноуровне.

11.2. Биоккомпозиты

11.2.1. Древесные и другие растительные волокна

Истинные биоккомпозиты на основе ПМК можно получить только с помощью армирования с использованием возобновляемых сырьевых материалов. Очевидным выбором является применение целлюлозного или лигноцеллюлозного волокон. На рисунке 11.2 представлены характеристики типичного полимера на основе ПМК (NatureWorks 7000D: $M_n = 80\,000$ г/моль, $M_w = 150\,000$ г/моль, по данным гелепроникающей хроматографии, оптическая чистота — 92%), усиленного волокнами из обработанной термомеханическим путем еловой пульпы, — зависимости прочности на разрыв и модуля упругости полимеров, полученных методом литья под давлением, от степени наполнения

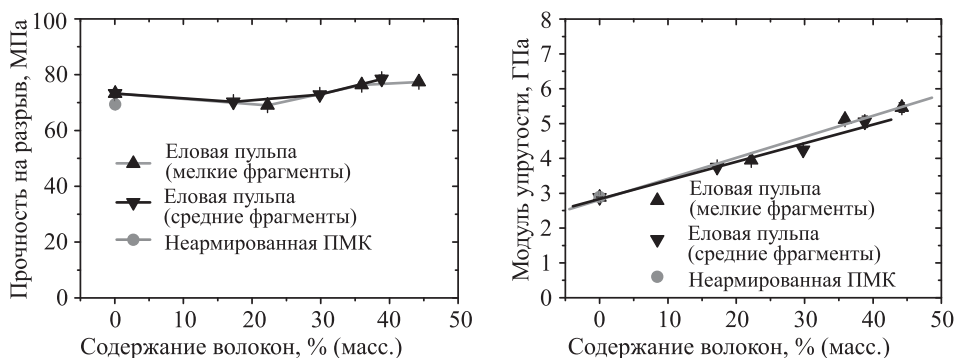


Рис. 11.2. Прочность на разрыв (*слева*) и модуль упругости (*справа*) полимера на основе ПМК, усиленного термомеханически обработанной еловой пульпой, в зависимости от содержания волокон

волокнами [6]. Видно что, добавление волокон никак не повлияло на прочность полимера, но увеличило его жесткость практически вдвое. В то же время удлинение при разрыве и ударная вязкость по Шарпи без надреза значительно понизились, как следует из рисунка 11.3.

Такое поведение, особенно в отношении к реакции на удар, является общей проблемой композитов, полученных литьем под давлением и армированных волокнами из древесной и другой растительной массы. Преодолеть этот недостаток позволяет использование скрученных целлюлозных волокон.

Фракции волокон для армирования биокомпозитов получали путем просеивания термомеханически обработанной древесной массы через соответствующие сита. Средняя длина мелких волокон составляла 0,9 мм, средних волокон — 2,9 мм. Средняя толщина фрагментов была, соответственно, 32 и 38 мкм, а отношение длины к толщине фрагмен-

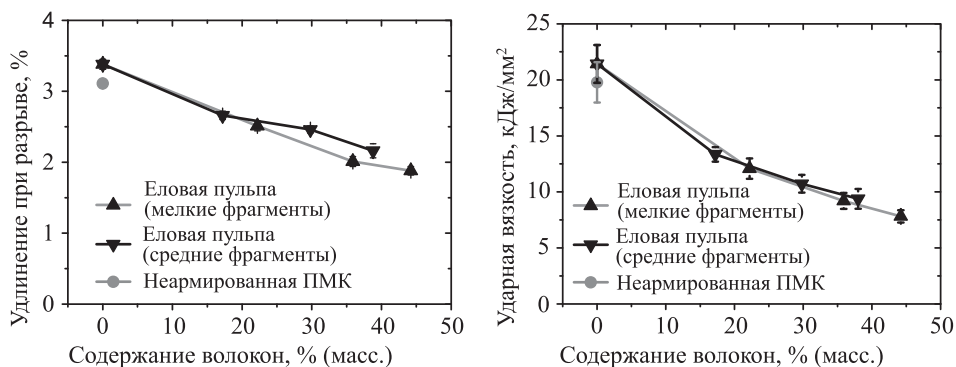


Рис. 11.3. Удлинение при разрыве (*слева*) и ударная вязкость по Шарпи без надреза (*справа*) полимера на основе ПМК, усиленного термомеханически обработанной еловой пульпой, в зависимости от содержания волокон

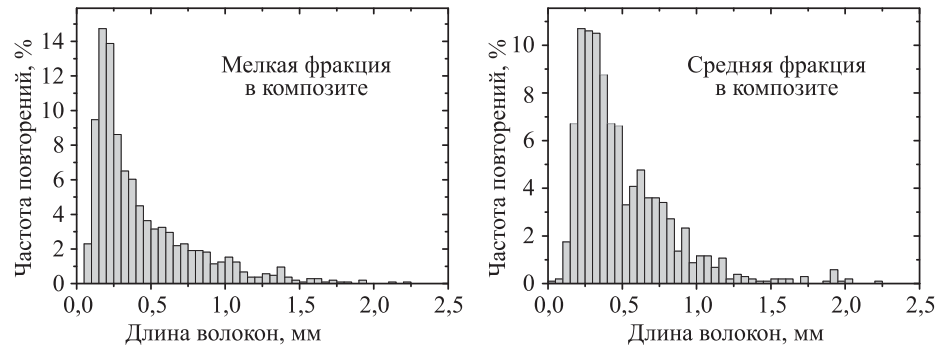


Рис. 11.4. Распределение длины волокон в полипропиленовом композите, содержащем термомеханически обработанную еловую пульпу (20% наполнения): мелкая (слева) и средняя (справа) фракции волокон

тов — 28 и 76. Рисунки 11.2 и 11.3 не показывают в явном виде влияние длины фрагментов и отношения их длины к толщине на механические свойства полимеров, но понятно, что длина волокон в процессе литья уменьшалась. Это видно из диаграммы распределения длин мелкой и средней фракции волокон, экстрагированных с помощью аппарата Сокслета из полипропиленовых композитов и измеренных оптическими методами в образце, содержащем 1000 отдельных волокон (рис. 11.4).

Хотя до обработки средняя длина волокон в средней фракции примерно в три раза превышает длину волокон в мелкой фракции, после литья средние значения практически сравниваются (0,56 и 0,44 мм соответственно). Соотношение длины волокон к их ширине в обоих случаях сокращается примерно до 20.

На рисунке 11.5 представлены СЭМ-изображения поверхности композита, содержащего 20% мелкой фракции волокон, полученные методом криоскальвания. На левой фотографии представлен общий

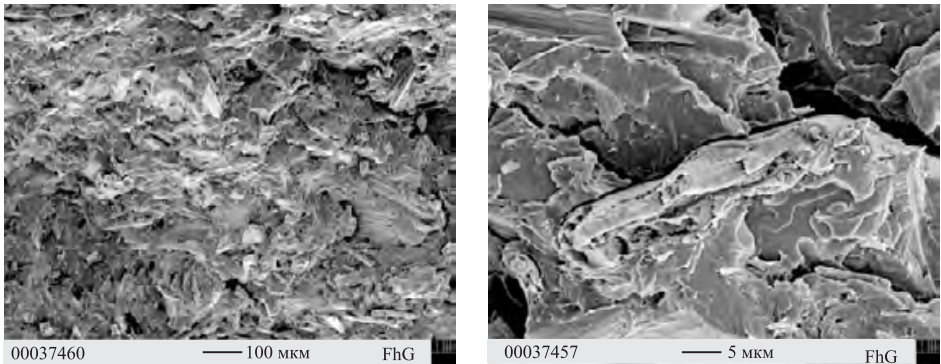


Рис. 11.5. Визуализация криосколов композита ПМК и термомеханически обработанной еловой пульпы с помощью метода сканирующей электронной микроскопии

гомогенный вид материала, а по правой фотографии можно судить об адгезии волокон на матрице. Здесь нет участков скопления волокон. Видны обрубки волокон, вытянутых в направлении приложенной нагрузки (левый нижний угол), а перпендикулярно расположенные волокна оказались расщепленными вдоль, что позволяет увидеть внутреннюю структуру волокна (центр и верхний правый угол). По-видимому, именно эта внутренняя структура волокон со слабым взаимодействием между волокнами и является причиной снижения прочности полимера.

Примерно такие же результаты были получены при других попытках улучшения механических свойств полимеров за счет их армирования целлюлозными или лигноцеллюлозными волокнами. Так, модуль упругости ПМК (Biomer L 9000, Biomer, Германия) со средней молекулярной массой 20 000 г/моль ($M_n = 10\,000$) удалось увеличить с 2,7 до 6,7 ГПа путем добавления 30% переработанной газетной бумаги [7]. Прочность на разрыв изменилась незначительно, а ударная вязкость по Изоду с надрезом для другой длины волокон снизилась с 25 Дж/м (без волокон) до 15 Дж/м (30% волокон). Только с помощью штапелированного стекловолокна удалось увеличить прочность на разрыв (на 27%) и ударную прочность с надрезом по Изоду (на 50%) [8].

Мэтью с соавторами [9] изучили три типа армирующих целлюлозных материалов для повышения прочности ПМК с молярной массой $M_w = 97\,000$ г/моль (Pollait, Fortum Oil, Порвоо, Финляндия). Свойства композитов, содержащих 25% (масс.) микрокристаллической целлюлозы (МКЦ), целлюлозных волокон с низким содержанием лигнина (ЦВ, Terracel, Rayonier, США) и древесной муки (ДМ), были изучены с помощью методов статического и динамического механического анализа. Прочность на разрыв этих композитов снизилась до 36 МПа (в случае МКЦ) и 45 МПа (ЦВ и ДМ) по сравнению с 50 МПа (неармированный полимер), тогда как модуль упругости повысился с 3,6 ГПа до 5,0, 6,0 и 6,3 ГПа соответственно. Сравнительно низкие показатели для МКЦ, возможно, связаны с топографией ее поверхности (гладкостью) и низким значением отношения длины волокон к их толщине.

Та же группа из Норвегии попыталась получить высокие показатели, перейдя от МКЦ к наноцеллюлозным материалам [10, 11]. Трудности, возникающие на этом пути, главным образом связаны с тенденцией подобных частиц к агрегации. Поэтому были использованы методы получения полимеров из раствора. Так, в работе [10] суспензию целлюлозных нановискеров* в системе LiCl/диметилацетамид загружали в экструдер, а затем удаляли растворитель в процессе экструзии. В работе [11] был применен метод литья из раствора. В обоих исследованиях основное внимание было уделено анализу структурных особенностей полученных материалов, а об улучшении механических свойств полимеров ничего не сообщается. Иватаке с соавторами [12] добились повышения прочности на разрыв пленки ПМК толщиной 300 мкм, полученной методом литья под давлением, от 50 до 70 МПа с помощью включения

* Нановискеры — нитевидные кристаллы с диаметром поперечного сечения 1–100 нм и соотношением длины к диаметру >100 . — *Прим. перев.*

10% микрофибриллированной целлюлозы (в основном состоящей из нановолокон). Более высокое содержание волокон приводило к снижению прочности на разрыв (анализ ударной вязкости не приведен).

Целлюлозные волокна не из древесины, а из льна [13], конопли [14], коноплевого гибискуса (кенафа) [15] и бамбука [16] тоже использовались для повышения прочности полимеров молочной кислоты. И вновь при введении этих волокон в полимер модуль упругости повышался, а прочность понижалась. В тех случаях, когда приводятся значения ударной вязкости, они оказываются ниже, чем соответствующие значения для неармированного полимера. В этой общей тенденции было лишь одно исключение: при содержании в полимере 30% волокон кенафа ударная вязкость по Шарпи увеличивалась на 65% (от 7,4 Дж/м до 12,2 Дж/м, вероятно — с 1,8 кДж/м² до 3 кДж/м²).

11.2.2. Искусственные целлюлозные волокна

Альтернативу полимеру ПМК, армированному растительными и древесными волокнами, составляет полимер ПМК, усиленный искусственными целлюлозными волокнами, который также способен разлагаться в биологических условиях. Для получения этих волокон целлюлозу (в виде особо чистой так называемой растворимой целлюлозы) полностью растворяют в подходящем растворителе (например, в N-метилморфолин-N-оксиде, НММО) либо используют производные целлюлозы (такие как вискоза или карбамат целлюлозы). Волокна из раствора получают методом мокрого прядения или сухомокроструйного прядения в виде нитей или штапельного волокна. В результате этих процессов получают нити с гомогенной структурой, они не содержат внутренних дефектов, которые характерны для армированных полимеров. Типичный диаметр волокон и их механические свойства приведены в таблице 11.1 [17].

Таблица 11.1

Диаметр и механические свойства волокон искусственной целлюлозы, полученных на основании измерений для одного волокна

Материал	Диаметр, мкм	Прочность на разрыв, МПа		Удлинение при разрыве, %		Модуль упругости, ГПа	
		среднее значение	σ	среднее значение	σ	среднее значение	σ
Cordenka 700	12	830	30	13	2	20	1,5
Вискоза Enka	15	310	15	24	1	11	0,5
Вискоза Sliver	10	340	40	12	4	11	1
NewCell	10	600	30	9	1	31	3
Tencel Sliver	11	550	40	11	2	23	2
Карбамат	11	360	15	8	1	22	1

σ — среднеквадратичное отклонение

Прочное техническое волокно из полимера марки Cordenka (Cordenka GmbH & Co. KG, Обернбург, Германия) используется для придания дополнительной прочности шинам для гоночных автомобилей, а вискозное волокно Enka (Enka GmbH & Co., Обербрух, Германия) — обычное сырье для получения ткани. Вискозу Sliver и Tencel Sliver получают в процессе производства штапельного волокна, а волокно New-Cell — путем растворения целлюлозы в НММО. Карбамат получают из прядильного раствора целлюлозы с мочевиной в технологическом процессе CARBACELL [18], который является безопасной для окружающей среды альтернативой производству вискозы.

Описанные выше волокна (см. табл. 11.1) характеризуются большим значением удлинения при разрыве и хорошими механическими свойствами (особенно это относится к вискозе для шинного корда). Достаточно подробно было изучено армирующее действие этих волокон по отношению к полипропилену [17, 19–21], который является самым широко используемым термопластиком в автомобильной промышленности. Результаты оказались не хуже тех, что были получены для полипропилена, армированного короткими фрагментами стекловолокна, а также для смесей поликарбоната с АБС-пластиком (термопластическая смола на основе сополимера акрилонитрила с бутадиеном и стиролом). Вискозный корд обладает не только хорошими показателями прочности и упругости, он оказался также отличным модификатором с целью повышения прочности как при комнатной, так и при повышенной температуре, благодаря присущему этому волокну высокому значению удлинения при разрыве и гомогенности структуры. Скоро стало понятно, что эти свойства можно использовать и для повышения низкой ударной вязкости ПМК [19].

На рисунке 11.6 представлена зависимость прочности на разрыв и модуля упругости при растяжении ПМК, армированной искусственным целлюлозным волокном (вискозой), как функция содержания волокон (Cordenka 700), от содержания волокна. Композиты были

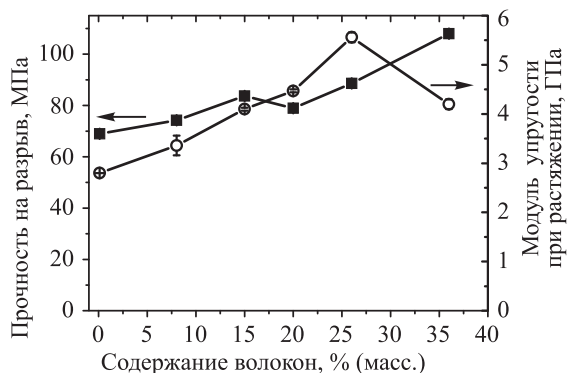


Рис. 11.6. Прочность на разрыв и модуль упругости при растяжении ПМК, армированной искусственным целлюлозным волокном (вискозой), как функция содержания волокон

получены по методике, описанной в работе [19], включающей в себя пултрузию (процесс получения одноосно ориентированного волокнистого пластика) с последующей гомогенизацией расплава. Видно, что с повышением содержания волокон ударная вязкость увеличивается — от 70 МПа в случае неармированного полимера до 108 МПа для полимера, содержащего 36% волокон. Это принципиально другой результат, нежели тот, что описывался выше на примере полимера молочной кислоты, армированного древесными или другими растительными волокнами (как было рассмотрено, при введении в полимер натуральных волокон ударная вязкость часто понижалась, поскольку эти волокна создавали участки структуры со слабой латеральной адгезией). Модуль упругости также вырос с 3 ГПа до почти 6 ГПа при содержании волокон 25%, однако при увеличении наполнения этот показатель вновь снижается. Возможно, это связано с некоторым нарушением ориентации волокон, которое вызвано их спутыванием при высокой концентрации.

На рисунке 11.7 представлены значения ударной вязкости по Шарпи с надрезом и без надреза, полученные при комнатной температуре. Наглядно показано преимущество использования искусственного целлюлозного волокна (вискозы). Ударная вязкость без надреза увеличилась от 20 кДж/м² (неармированный полимер) почти до 70 кДж/м² (полимер, содержащий 36% волокон), а ударная вязкость с надрезом повысилась от 2 до 8 кДж/м². Такая же закономерность наблюдалась и при низких температурах, как показано на рисунке 11.8 на примере значений ударной вязкости с надрезом при -18°C .

Распределение длин волокон в образце для испытания из композита ПМК с 25% вискозы, полученного методом литья под давлением, представлено на рисунке 11.9. Начальная длина фрагментов волокон после гранулирования на стадии пултрузии составляла около 4 мм, но на стадии гомогенизации и на второй стадии гранулирования длина волокон значительно сократилась, как это обычно бывает с композитами

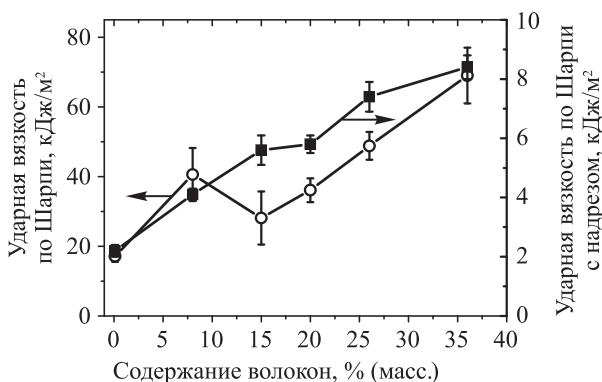


Рис. 11.7. Значения ударной вязкости по Шарпи с надрезом и без надреза, полученные для полимера ПМК, армированного вискозой, при комнатной температуре в зависимости от содержания волокон

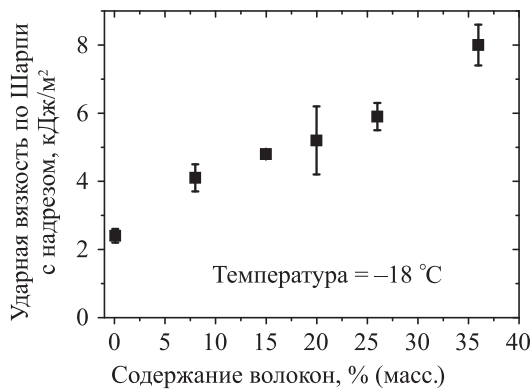


Рис. 11.8. Значения ударной вязкости по Шарпи с надрезом (ПМК, армированная вискозой) при температуре -18 °C в зависимости от содержания волокон

полипропилен/вискоза [19]. Однако по сравнению с аналогичным распределением для термомеханически обработанной древесной массы (см. рис. 11.4) максимум смещен в сторону более длинных фрагментов, а распределение является более размытым. Такой характер распределения говорит о меньшей степени повреждений волокон в ходе переработки. Более того, среднее значение длины волокон составляет 1,14 мм, а их диаметр — 12 мкм, так что среднее отношение длины к диаметру равно почти 100, что значительно выше, чем в композитах с древесными волокнами.

Морфология криосколов полимера, полученная методом СЭМ, представлена на рисунке 11.10. Общий вид поверхности (слева) отражает гомогенную структуру композита; видны обрывки волокон, углубления и трещины матрицы. При большем увеличении (справа) выявляется характерная морфология армированного вискозой полимера, между волокнами и матрицей видны небольшие зазоры. Адгезионное взаимодействие

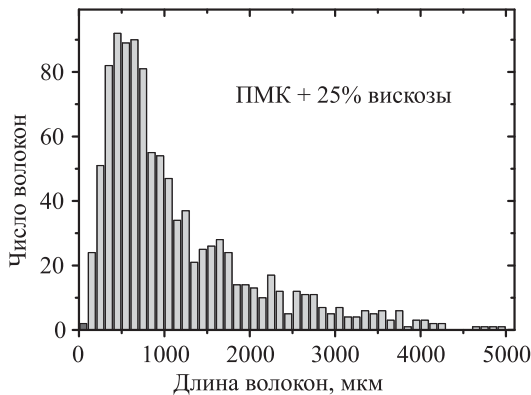


Рис. 11.9. Распределение длины волокон в композите ПМК/вискоза, полученного методом литья под давлением

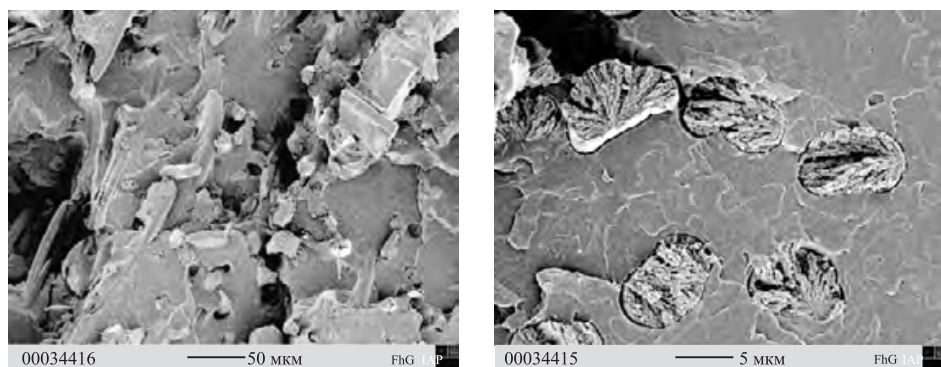


Рис. 11.10. Криосколы композита ПМК/вискоза, исследованные методом СЭМ

все еще не оптимальное, однако в системах, где такое взаимодействие отсутствует полностью, волокна в большей степени оборваны, и изображение, полученное микроскопом, похоже на «мазки малярной кисти».

Бакс и Мюссиг получили аналогичные результаты для различных типов полимеров молочной кислоты [22]. При добавлении 30% волокон Cordenka им удалось незначительно поднять прочность на разрыв — от 50 до 58 МПа, однако ударная вязкость выросла с 16 до 70 кДж/м², что полностью подтверждает представленные выше данные.

Таким образом, можно заключить, что с помощью древесных и других природных волокон, а также искусственных волокон на основе целлюлозы можно получить полностью биоразлагаемый биоккомпозит ПМК с улучшенными механическими свойствами. В случае древесных и других растительных волокон удастся добиться значительного повышения жесткости полимера, хотя его прочность почти не изменяется, а иногда и понижается. В этой связи невысокая ударопрочность изделий из ПМК еще больше снижается. Напротив, включение волокон из искусственной целлюлозы приводит к выраженному, хотя и не очень большому, улучшению ударопрочности, что позволяет преодолеть недостатки этого биопластика.

11.3. Наноккомпозиты

В связи с возрастающим влиянием «зеленой» химии пристальное внимание уделяется биоразлагаемым полимерам и слоистым силикатным наноккомпозитам [23]. Кроме слоистых силикатов существуют и другие наполнители для получения наноккомпозитов — углеродные нанотрубки [24–28], слоистые титанаты [29], диоксид титана [30], диоксид кремния [31, 32], синтетическая слюда [33], карбонат кальция [34] и пр. По сравнению с традиционными композитами, в которых армирующий наполнитель составляет от 20 до 40% от всей массы, в наноккомпозитах содержание наполнителя очень мало, часто — всего несколько про-

центов. Благодаря малым размерам частиц наполнителя, доля поверхности контакта между матрицей и наполнителем весьма существенна даже при низком содержании наполнителя, так что наполнитель в значительной степени изменяет свойства матрицы.

Количество научных статей, посвященных созданию наноккомпозитов на основе ПМК, чрезвычайно велико, поэтому мы рассмотрим только те из них, в которых содержатся данные о прочности, вязкости и гибкости полимеров и описана технология литья.

В последние годы большое внимание исследователей привлекают природные слоистые силикаты. В этих структурах частицы микроскопического размера, состоящие из нанослоев диоксида кремния с включенными ионами, распределены в полимерной матрице или встроены в нее слоями. Для облегчения формирования такой матрицы неорганические ионы, связывающие между собой силикатные слои и компенсирующие суммарный заряд этих слоев, заменяют на более крупные органические ионы, в результате чего образуются модифицированные слоистые силикаты, такие как модифицированные бентониты и монтморрилониты (ММТ).

В 2003 г. Рей с соавторами опубликовали серию статей, в которых было проведено сравнение структуры и свойств композитов на основе ПМК, полученных методом литья под давлением и содержащих пять различных вариантов модифицированной глины (органоглины) [35–38]. Для исследований использовали ПМК, содержащую от 1,1 до 1,7% *D*-компонента (оптическая чистота от 96,6 до 97,8%), с $M_w = 177\,000$ г/моль и $M_w / M_n = 1,58$ (Unitika Co, Япония).

Наилучшие значения прочности на изгиб и растяжения при разрыве для отожженных (кристаллизованных) образцов были получены при концентрации глины 4% в случае ММТ, модифицированного катионами октадецилтриметиламмония [35], и при концентрации 7% в случае синтетической фторированной слюды, модифицированной катионами *N*-(кокоалкил)-*N,N*-[бис(2-гидроксиэтил)]-*N*-метиламмония [36]. При содержании глины 4%, которое было выбрано для проведения сравнительного анализа, предел прочности на изгиб вырос с 86 МПа для ПМК до 130 МПа для ММТ с ионами октадецилтриметиламмония или октадециламмония в качестве модификатора. Повышение модуля упругости было незначительным. Результаты для сапонитовой глины, ММТ, модифицированного диоктадецилдиметиламмонием, и синтетической слюды оказались менее обнадеживающими. Однако выяснилось, что аморфные пленки, содержащие от 10 до 20% синтетической слюды, пропускают на 35% меньше кислорода, чем пленки из ПМК без добавок. Другие глины поднимали кислородный барьер в значительно меньшей степени. Отчасти это должно объясняться тем, что толщина слоя слюды составляет от 200 до 300 нм, а всех других глин — всего от 50 до 150 нм [37]. Включение наполнителя позволило также повысить деформационную теплостойкость полимеров, особенно при нагрузке около 1 МПа: для ПМК критическая температура составляла 75 °С, а при добавлении глины (7%) она увеличивалась до 100 и даже 110 °С. Значения ударной

вязкости не приводятся, однако увеличение растяжения при разрыве от 1,9 до 3,9% в случае наноккомпозитов ММТ говорит о слабом повышении пластичности [37].

Однако хрупкость по-прежнему «слабое место» композитов на основе ПМК, и интересно посмотреть, как в этой ситуации могло бы помочь включение слоистых силикатов. Шаг в этом направлении был сделан Погодиной с соавторами [39]. Они использовали ПМК (Nature Works) с оптической чистотой 92%, $M_w = 108\,000$ и $M_w/M_n = 1,7$, усиленную коммерческим модифицированным ММТ (Cloisite 30B, Southern Clay Products, Гонзалес, Техас). При содержании глины 3% прочность полимера на разрыв (60 МПа) не изменилась, однако удлинение при растяжении увеличилось с 5 до 15%, а модуль упругости вырос с 1,9 ГПа до 2,3 ГПа. К сожалению, в работе не представлены данные об ударной вязкости этого пластичного композита.

Такая же тенденция отмечена группой Жианг [34]: они зафиксировали рост удлинения при разрыве ПМК (Nature Works 4032 D; $M_w = 108\,000$ г/моль и $M_w/M_n = 1,7$) с ММТ, модифицированным тем же катионом. Неармированный полимер характеризовался удлинением 5%, тогда как в присутствии 2,5% ММТ этот показатель вырос до 12%. Аналогичные результаты были получены при использовании наночастиц карбоната кальция, однако при более высокой концентрации наполнителя — 5 и 7,5%. И вновь в работе не представлены результаты, отражающие поведение полимера при ударе.

Существует еще один известный способ улучшения ударной вязкости полимера, заключающийся во введении в матрицу таких модификаторов, как полиэтиленгликоль (ПЭГ). Однако прочность и жесткость полимера при этом значительно снижаются. Нивелировать данный эффект можно путем включения наноглины.

Таноуей с соавторами добавляли 5% ПЭГ с молярной массой 2 000 и 300 000–500 000 г/моль для пластификации коммерческого образца ПМК (LACEA H-100, Mitsui Chemicals, Япония; $M_w = 140\,000$ г/моль), в состав композита также входила глина двух видов (модифицированная диметилстеариламмонием и диметилдистеариламмонием) [40]. Лишь в присутствии последнего наполнителя и при наличии 5% ПЭГ-2000 им удалось добиться повышения удлинения при растяжении от 1,4% (ПМК) до 1,9% (композит). Модуль упругости не изменился, однако прочность на разрыв выросла с 29 до 35 МПа. К сожалению, не представлены значения для пластифицированного полимера, так что роль глины в пластифицированной матрице остается неясна. По сравнению с чистым полимером ПМК было достигнуто лишь скромное увеличение пластичности; данные по ударопрочности материала также не представлены.

Гораздо более выраженный эффект был зарегистрирован Шибатой с соавторами для того же типа ПМК, содержащего в качестве пластификатора диглицеринтетраацетат и армированный ММТ, который был модифицирован октадециламмонием (ОДА) [41]. При добавлении 10% пластификатора прочность на разрыв снизилась с 65 до 45 МПа,

а модуль — с 2,6 до 2,5 ГПа, хотя удлинение при растяжении заметно не увеличилось. При добавлении 3% ОДА-модифицированной наноглины удлинение при растяжении выросло более чем на 200%, в то время как прочность и модуль упругости практически не изменились. Представленный в этой работе график зависимости растяжения от приложенного напряжения для этого композита демонстрирует значительное снижение напряжения (до половины высоты пика) после предела текучести при приблизительно 3%-м удлинении. Непластифицированный композит также характеризуется повышенным значением удлинения при разрыве — около 20% (цифры в статье не представлены, так что это оценочное значение, полученное из графика), по сравнению с 3–4% для чистого полимера. И вновь поведение полимера при ударе никак не оценивалось.

Для улучшения механических свойств ПМК в полимер вводили углеродные нанотрубки (УНТ) [25, 26]. Этот наполнитель также не может применяться без модификации, а для повышения реакционной способности углерода и активации его взаимодействия с матрицей требуется предварительная обработка. Кроме того, можно дополнительно модифицировать матрицу. Куан с соавторами привили к ПМК γ -хлорпропилтриэтоксисилан и модифицировали УНТ винилтриметоксисиланом [26]. Ву и Лиао привили к ПМК акриловую кислоту и активировали УНТ 6-гидроксигексильным эфиром [25]. В последнем случае прочность на разрыв увеличилась с 49 до 62 МПа при содержании наполнителя 1%. В первом случае при содержании наполнителя 4% прочность на разрыв возросла с 57 до 62 МПа, однако после образования поперечных сшивок в воде через 7 ч эти значения стали еще выше — 63 и 69 МПа соответственно. О других механических характеристиках этих полимеров ничего не сообщается.

11.4. Заключение

Армирование полимера молочной кислоты с помощью древесных и других видов растительных волокон, искусственных целлюлозных волокон, а также таких наноструктур, как наноглины или углеродные нанотрубки, может значительно улучшить механические свойства полимера. В целом природные волокна повышают жесткость и, в редких случаях, прочность композитов, тогда как ударопрочность ПМК, и так достаточно низкая, может еще больше понижаться. Следуя идее сохранения полностью биологической природы материала, в качестве армирующего наполнителя можно использовать волокна искусственной целлюлозы (например, вискозный шинный корд). Сопrotивляемость удару, а также жесткость и прочность таких композитов значительно возрастают, чего не происходит при применении традиционных модификаторов ударопрочности.

Нанонаполнители, традиционно применяемые для полимеров, хотя и не разлагаются в биологических условиях, могут с успехом использоваться в очень низких концентрациях (например, от 1 до 4%)

для повышения жесткости, прочности и ударной вязкости материалов. Насколько нам известно, в литературе редко приводятся данные об ударопрочных свойствах полимерных материалов. Поэтому следует обратить внимание на то, как увеличение удлинения при растяжении (т. е. увеличение пластичности при небольших нагрузках) влияет на поведение полимерных материалов при ударе.

Литература

1. Södergård, A., Stolt, M., 2002. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Prog. Polym. Sci.* 27: 1123–1163.
2. Middleton, J.C., Tipton, A.J., 2000. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* 21: 2235–2246.
3. Auras, R., Harte, B., Selke, S., 2004. An overview of polylactides as packaging materials. *Macromol. Biosci.* 4: 835–864.
4. Sinclair, R.G., 1996. The case for polylactic acid as a commodity packaging plastic. *J. Macromol. Sci., Part A* 33: 585–597.
5. Drumright, R.E., Gruber, P.R., Henton, D.E., 2000. Polylactic acid technology. *Adv. Mat.* 12: 1841–1846.
6. Horbens, M., 2008. Orientierende Untersuchungen zum Einsatz von Holzfasern in Holz-Polymer-Verbunden. Diploma thesis, Technical University Dresden and Fraunhofer Institute for Applied Polymer Research, Potsdam, Germany.
7. Huda, M.S., Mohanty, A.K., Drzal, L.T., Schut, E., Misra, M., 2005. “Green” composites from recycled cellulose and poly(lactic acid): Physico-mechanical and morphological properties evaluation. *J. Mat. Sci.* 40: 4221–4229.
8. Huda, M.S., Drzal, L.T., Mohanty, A.K., Misra, M., 2006. Chopped glass and recycled newspaper as reinforcement fibers in injection molded poly(lactic acid) (PLA) composites: A comparative study. *Comp. Sci. Technol.* 66: 1813–1824.
9. Mathew, A.P., Oksman, K., Sain, M., 2006. Mechanical properties of biodegradable composites from poly lactic acid (PLA) and microcrystalline cellulose (MCC). *J. Appl. Polym. Sci.* 97: 2014–2025.
10. Oksman, K., Mathew, A.P., Bodeson, D., Kvien, I., 2006. Manufacturing process of cellulose whiskers/polylactic acid nanocomposites. *Comp. Sci. Technol.* 66: 2776–2784.
11. Petersson, L., Kvien, I., Oksman, K., 2007. Structure and thermal properties of poly(lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. *Comp. Sci. Technol.* 67: 2535–2544.
12. Iwatake, A., Nogi, M., Yano, H., 2008. Cellulose nanofiber-reinforced polylactic acid. *Comp. Sci. Technol.* 68: 2103–2106.
13. Oksman, K., Skrifvars, M., Selin, J.-F., 2003. Natural fibers as reinforcement in polylactic acid (PLA) composites. *Comp. Sci. Technol.* 63: 1317–1324.

14. Masirek, R., Kulinski, Z., Chionna, D., Pirkowska, E., Pracella, M., 2007. Composites of poly(L-lactide) with hemp fibers: Morphology and thermal and mechanical properties. *J. Appl. Polym. Sci.* 105: 255–268.
15. Garcia, M., Garmendia, I., Gareia, J., 2008. Influence of natural fiber type in eco-composites. *J. Appl. Polym. Sci.* 107: 2994–3004.
16. Lee, S.-H., Wang, S., 2006. Biodegradable polymers/bamboo fiber bio-composite with biobased coupling agent. *Composites: Part A* 37: 80–91.
17. Ganster, J., Fink, H.-P., 2006. Novel cellulose fiber reinforced thermoplastic materials. *Cellulose* 13: 271–280.
18. Voges, M., Brück, M., Gensrich, J., Fink, H.-P., 2002. The CARBA-CELL process—An environmentally friendly alternative for cellulose man-made fiber production. *ipw/Das Papier*, issue 4 T74.
19. Ganster, J., Fink, H.-P., Pinnow, M., 2006. High tenacity man-made cellulose fiber reinforced thermoplastics—Injection molding compounds with polypropylene and alternative matrices. *Composites: Part A* 37: 1796–1804.
20. Fink, H.-P., Ganster, J., 2006. Novel thermoplastic composites from commodity polymers and man-made cellulose fibers. *Macromol. Symp.* 244: 107–118.
21. Ganster, J., Fink, H.-P., Uihlein, K., Zimmerer, B., 2008. Cellulose man-made fiber reinforced polypropylene—Correlations between fiber and composite properties. *Cellulose* 15: 561–569.
22. Bax, B., Müssig, J., 2008. Impact and tensile properties of PLA/Cor-denka and PLA/flax composites. *Comp. Sci. Technol.* 68: 1601–1607.
23. Ray, S.S., Bousmina, M., 2005. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Prog. Mat. Sci.* 50: 962–1079.
24. Kim, H.-S., Park, B.H., Yoon, J.-S., Jin, H.-J., 2007. Thermal and electrical properties of poly(L-lactide)-graft-multiwalled carbon nanotube composites. *Europ. Polym. J.* 43: 1729–1735.
25. Wu, C.-S., Liao, H.-T., 2007. Study on the preparation and characterization of biodegradable polylactide/multi-walled carbon nanotube nanocomposites. *Polymer* 48: 4449–4458.
26. Kuan, C.-F., Chen, C.-H., Kuan, H.-C., Lin, K.-C., Chiang, C.-L., Peng, H.-C., 2008. Multi-walled carbon nanotube reinforced poly(L-lactide acid) nanocomposites enhanced by water-crosslinking reaction. *J. Phys. Chem. Sol.* 69: 1399–1402.
27. Wu, D., Wu, L., Zhang, M., Zhao, Y., 2008. Viscoelasticity and thermal stability of polylactide composites with various functionalized carbon nanotubes. *Polym. Degr. Stabil.* 93: 1577–1584.
28. Chiu, W.-M., Chang, Y.-A., Kuo, H.-Y., Lin, M.-H., Wen, H.-C., 2008. A study of carbon nanotubes/biodegradable plastic polylactic acid composites. *J. Appl. Polym. Sci.* 108: 3024–3030.

29. Hiroi, R., Ray, S.S., Okamoto, M., Shiroy, T., 2004. Organically modified layered titanate: A new nanofiller to improve the performance of biodegradable polylactide. *Macromol. Rapid Commun.* 25: 1359–1364.
30. Liao, H.-T., Wu, C.-S., 2008. New biodegradable blends prepared from polylactide, titanium tetraisopropylate, and starch. *J. Appl. Polym. Sci.* 108: 2280–2289.
31. Yan, S., Yin, J., Yang, J., Chen, X., 2007. Structural characteristics and thermal properties of plasticized poly(L-lactide)-silica nanocomposites synthesized by the sol-gel-method. *Mat. Lett.* 61: 2683–2686.
32. Wu, C.S., Liao, H.-T., 2008. Modification of biodegradable polylactide by silica and wood flour through a sol-gel process. *J. Appl. Polym. Sci.* 109: 2128–2138.
33. Chang, J.-H., An, Y.U., Cho, D., Giannelis, E.P., 2003. Poly(lactic acid) nanocomposites: Comparison of their properties with montmorillonite and synthetic mica (II). *Polymer* 44: 3715–3720.
34. Jiang, L., Zhang, J., Wolcott, M.P., 2007. Comparison of polylactide/nano-sized calcium carbonate and polypactide/montmorillonite composites: Reinforcing effects and toughening mechanisms. *Polymer* 48: 7632–7644.
35. Ray, SS, Yamada, K., Okamoto, M., Ueda K., 2003. New polylactide-layered silicate nanocomposites. 2. Concurrent improvements of material properties, biodegradability and melt rheology. *Polymer* 44: 857–866.
36. Ray, S.S., Yamada, K., Okamoto, M., Ogami, A., Ueda, K., 2003. New polylactide/layered silicate nanocomposites. 3. High performance biodegradable materials. *Chem. Mater.* 15: 1456–1465.
37. Ray, S.S., Okamoto, M., 2003. Biodegradable polylactide and its nanocomposites: Opening a new dimension for plastics and composites. *Macromol. Rapid Commun.* 24: 815–840.
38. Ray, S.S., Yamada, K., Okamoto, M., Jujimoto, Y., Ogami, A., Ueda, K., 2003. New polylactide/layered silicate nanocomposites. 5. Designing of materials with desired properties. *Polymer* 44: 6633–6646.
39. Pogodina, N.V., Cercle, C., Averous, L., Thomann, R., Bouquey, M., Muller, R., 2008. Processing and characterization of biodegradable polymer nanocomposites: Detection of dispersion state. *Rheol. Acta* 47: 543–553.
40. Tanoue, S., Hasook, A., Iemoto, Y., Unryu, T., 2006. Preparation of poly(lactic acid)/poly(ethylene glycol)/organoclay nanocomposites by melt compounding. *Polym. Comp.* 27: 256–263.
41. Shibata, M., Someya, Y., Orihara, M., Miyoshi, M., 2006. Thermal and mechanical properties of plasticized poly(L-lactide) nanocomposites with organomodified montmorillonites. *J. Appl. Polym. Sci.* 99: 2594–2602.

СТРОЕНИЕ НАНОМАТЕРИАЛОВ И ИХ ТОКСИЧНОСТЬ*

Халид Лафди

*Исследовательский институт
Университета Дейтона, Огайо, США*

12.1. Введение

В сфере производства и коммуникаций постоянно появляются новые материалы, позволяющие повысить эффективность процессов. Благодаря совершенствованию методов производства и анализа, появился новый мощный инструмент — наноматериалы. Наноматериалом принято называть материал, основной структурный элемент которого имеет линейный размер от $1 \cdot 10^{-9}$ до $100 \cdot 10^{-9}$ м и хотя бы один из параметров которого отличается от соответствующего параметра эквивалентного материала с более крупным размером частиц. Обычно наноматериалы имеют отличные от объемных материалов электропроводность и теплопроводность, а также механические и оптические свойства. Изменение этих свойств на наноуровне является причиной столь большого значения наноматериалов для современных технологий [1].

Нанотехнологии развиваются с чрезвычайно высокой скоростью и обещают в значительной степени изменить тот мир, в котором мы живем. По данным исследовательского агентства Lux Research (США), в 2004 г. мировая стоимость продукции, содержащей наноматериалы, оценивалась в 15 млрд долл., в 2005 г. — в 23 млрд долл., а в 2006 г. — в 50 млрд долл. США. По оценкам, летом 2007 г. на мировом рынке фигурировало около 500 видов продукции, содержащей наночастицы [2], — это самоочищающиеся стекла, солнцезащитные средства, перевязочные материалы, кремы от морщин, не пачкающаяся и не электризующаяся одежда, легкое спортивное снаряжение повышенной прочности и др.

Но применение наноматериалов не ограничивается только потребительскими товарами; быстро развиваются исследования, направленные на получение сложных наноструктур, покрытий, адгезивных материалов и различных наноустройств. Среди новых научных достижений можно выделить полупроводниковые наночастицы, используемые в качестве флуоресцентных меток, биоконъюгаты наночастиц золота

* Проблемам, затронутым в этой главе, посвящены недавно выпущенные в издательстве «БИНОМ. Лаборатория знаний» книги *Наноструктуры в биомедицине* (под ред. К. Гонсалвес и др.; пер. с англ.) и *Экология наноматериалов* (учебное пособие; авторы Годымчук А. Ю, Савельев Г. Г. и Зыкова А. П.; под ред. Л. Н. Патрикеева и А. А. Ревиной).

для лечения больных раком, полимерные композиты с наноструктурированной оболочкой, применяемые в системах направленной доставки лекарств, и присадки для топлива, снижающие выброс продуктов сгорания дизельного топлива [3, 4].

Наиболее перспективны наноматериалы на основе углерода. Никакие другие материалы не обладают таким разнообразием структур, обусловленным наличием протяженной сети прочных углерод-углеродных связей. Наноматериалы на основе углерода находят применение в качестве нанопористых фильтров, подложек для катализаторов, покрытий, полевых эмиттеров, на их основе разрабатываются новые электронные и биомедицинские приборы, энергосберегающие устройства, адгезивные материалы и композиты для авиакосмической и автомобильной промышленности [5–7].

Преимущества от применения наноматериалов весьма существенны, однако население должным образом не информировано о возможных рисках, связанных с этими материалами. Вероятная токсичность наноматериалов связана с теми же особенностями этих материалов, что делают их столь привлекательными для современных технологий. В частности, уменьшение размера частиц и соответствующее увеличение площади поверхности могут способствовать повышению биологической активности материалов [8, 9]. Наночастицы мельче эукариотических клеток и даже большинства клеточных органелл, а значит, они могут захватываться этими органеллами, вмешиваясь в различные внутриклеточные процессы. Хотя способность наночастиц проходить сквозь клеточную мембрану и живые ткани, разноситься по лимфатической и кровеносной системе может быть полезной в ряде случаев, например при создании систем доставки лекарственных препаратов, она же может обернуться и неожиданной и негативной стороной.

В прошлом уже случалось, что отсутствие информации о токсичности материалов до начала их широкого применения в промышленности и в быту приводило к плачевным последствиям. Например, асбест широко применяли для производства цемента, изоляторов, покрытий и других материалов в связи с его высокой прочностью, гибкостью и термостойкостью. Через несколько десятилетий после начала широкого использования асбеста эпидемиологические и клинические исследования показали опасность этого материала для здоровья людей. В 1972 г. был принят закон, касающийся производства и применения асбеста, в котором оговаривались необходимые меры безопасности для рабочих, предприятия обязывали осуществлять проверку состояния рабочих мест. Однако к тому времени, когда этот закон вошел в силу, тысячи людей умерли, столько же людей подверглись серьезным заболеваниям легких, связанным с воздействием асбестовой пыли [10, 11].

Но, несмотря на тревожные уроки прошлого и предупреждения токсикологов относительно возможной опасности, наноматериалы продолжают внедряться в новые технологии без строгого надзора. Если опасность для здоровья людей будет обнаружена через несколько десятилетий, возможно, будет слишком поздно вводить меры безопасности для тех, кто уже подвергся воздействию этих веществ. Чтобы печальная

история не повторилась, влияние наноматериалов на здоровье человека и окружающую среду необходимо изучить заранее, и законодательные органы должны предусмотреть необходимые меры безопасности до того, как сложится плохая эпидемиологическая или клиническая ситуация. Таким образом, должны быть приняты превентивные меры, основанные на результатах токсикологического анализа.

Конечно, нанотехнологии обещают небывалый прогресс в развитии науки и производства, но научное сообщество должно попытаться предсказать неизвестные пока последствия от воздействия наноматериалов. Нужно как можно скорее ввести тестовые процедуры, позволяющие оценить безопасность производства и использования наноматериалов. Поскольку наноматериалы сильно различаются по составу, размеру, форме и структуре частиц, а также по свойствам поверхности, общие правила одновременно для всех наноматериалов сформулировать нельзя. Анализ токсичности материалов должен включать их подробное описание характерных признаков и свойств, оценку возможного риска от контакта с этими материалами; кроме того, должны быть разработаны методы предсказания возможной опасности, позволяющие по возможности ее избежать.

Целью данной главы было проанализировать токсичность наноматериалов на клеточном уровне с помощью моделей *in vitro*. Мы изучили влияние размера частиц на токсичность углеродных наноматериалов. Кроме того, мы проанализировали влияние примесей, сравнивая токсичность чистых многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ) и МУНТ, содержащих металлические примеси, а также исследовали влияние на токсичность площади поверхности и поверхностного заряда на примере углеродных наноматериалов с развитой и обычной поверхностью и низким содержанием примесей. Мы сравнивали влияние примесей металлических катализаторов, которые обычно используют для синтеза углеродных наноматериалов. Наконец, полученные данные были использованы для выведения фактора токсичности, позволяющего предсказать последствия воздействия углеродных наноматериалов. Стимулом для проведения подобного исследования стал очевидный недостаток информации, касающейся риска для здоровья всех тех, кто производит и использует углеродные наноматериалы. Целью работы было создание метода предсказания токсичности наноматериалов для биологических систем.

12.2. Наноматериалы и нанотехнология

Материалами на основе наночастиц могут быть металлы, полупроводники, керамика, полимеры, стекло, углерод, биологические молекулы и различные композиты. Метод синтеза каждого конкретного наноматериала зависит от его химической природы и применения. Среди основных методов синтеза наноматериалов можно назвать газофазный, золь-гелевый, сонохимический и микроэмульсионный, а также измельчение в высокоэнергетических шаровых мельницах [12].

Газофазный синтез применяют для производства практически любых типов материалов. Это один из лучших методов получения частиц одинакового размера, в процессе которого исходный материал испаряется и конденсируется в атмосфере инертного газа. Вариантами газофазного синтеза являются синтез в режиме горения, лазерная абляция, химическое осаждение из газовой фазы (CVD) и электрораствложение.

Золь-гелевые технологии обычно применяют для получения металлических, полупроводниковых и керамических наноматериалов. К этой группе методов относится химический синтез с помощью гелеобразования, осаждения и гидротермальной обработки. Для контроля размера и стабильности образующихся частиц вводят легирующие агенты, подвергают реакционную систему тепловой обработке и др. [12].

Сонохимический метод используют для получения наночастиц металлов, сплавов, полупроводников и карбидов. Этот способ лучше применять, когда нужно получить большой объем материала. Акустическая кавитация приводит к росту и схлопыванию пузырьков в жидкости; при этом внезапные изменения температуры и давления вызывают разрушение материала-предшественника и образование наночастиц [13].

Микроэмульсионный синтез можно использовать для получения металлических, полупроводниковых, магнитных и сверхпроводящих наночастиц; это идеальный метод для крупномасштабного производства. Процесс основан на взаимодействии поверхностно-активного вещества (ПАВ) с двумя несмешивающимися между собой жидкостями. Молекулы ПАВ образуют нанометровые мицеллы. В систему добавляют молекулы предшественника, повышают давление, и внутри мицелл ПАВ формируются наночастицы вещества [12].

Для получения магнитных и каталитических наночастиц применяют высокоэнергетические шаровые мельницы. В данном случае исходный материал измельчают в очень тонкий порошок. Недостатками метода являются небольшая площадь поверхности частиц и значительный разброс их размеров, а также низкокristаллическое состояние порошка [12].

Для некоторых целей синтезируют наноматериалы с определенными модификациями поверхности или используют метод программируемого роста частиц. После синтеза часто проводят стадию очистки для удаления катализаторов и добавок, способствовавших росту частиц. Развитие нанотехнологии подстегивается идеей о том, что новые методы синтеза и модификации поверхности позволят получить наночастицы с заданными и улучшенными свойствами. Постоянное усовершенствование методов синтеза и исследования свойств наноматериалов способствовало более глубокому пониманию связи между структурой и свойствами вещества, а особые свойства наноматериалов, в свою очередь, привели к быстрому росту нанотехнологии.

Одни материалы считаются более перспективными, поскольку обладают более широким спектром структур и свойств, другие — менее востребованы, но применение находят самые разные наноматериалы:

полупроводниковые, металлические, керамические, полимерные, стеклянные, липидные, композитные и углеродные.

Кремневые наноматериалы оказались полезными по причине стабильности в широком диапазоне pH, ионной силы и температуры, что позволяет использовать их в различных химических средах. Кроме того, к поверхности кремниевых наночастиц можно присоединить функциональные группы с целью решения различных биологических задач [43, 44]. Кремний может служить оболочкой для магнитных материалов. В кремниевые наночастицы могут быть встроены молекулы красителей, что позволяет синтезировать люминесцентные наночастицы для биологического анализа. Содержащие краситель кремниевые наночастицы (DSNP) часто получают в виде микроэмульсии «вода в масле», где кремниевые сферы содержат тысячи молекул красителя.

Кремниевые наночастицы с красителем отличаются большей интенсивностью свечения по сравнению с обычными молекулами красителя и меньше подвергаются фотообесцвечиванию. DSNP применяют в качестве замены традиционных флуорофоров в самых разных биологических исследованиях, включая мечение белков, ДНК, генов, патогенов, внутриклеточных структур, клеток и тканей. Сочетание люминесцентных свойств со свойствами наночастиц позволяет использовать их для изучения транспорта наноматериалов в биологических системах, а также механизмов захвата наноматериалов клетками и тканями. DSNP также могут заменить биологические молекулы, использующиеся для количественного анализа белков и в качестве сенсорных систем неинвазивного мониторинга внутриклеточных изменений pH [45, 46]. Другим вариантом люминесцентных наночастиц являются квантовые точки, обычно состоящие из селенида кадмия; они оказались полезными в качестве сенсоров в биологических системах. В некоторых случаях квантовые точки включают в кремниевую оболочку, чтобы повысить их стабильность и получить возможность модифицировать поверхность [43].

Металлосодержащие наночастицы также показывают хорошие результаты в целом ряде областей. Например, наночастицы серебра можно использовать в качестве компонента костного цемента. Они оказывают антимикробное действие, и поэтому их включают в состав многих коммерческих продуктов. Наночастицы золота можно применять для дифференцирования здоровых и опухолевых клеток на основании различия в метаболизме этих двух типов клеток [47, 48]. В США наночастицы алюминия добавляют в твердое ракетное топливо, а Центр вооружений морской авиации США рассматривает их в качестве замены свинца в составе артиллерийских снарядов и вводит в покрытия карданного вала [27, 49]. Полимерные наночастицы со структурой ядро/оболочка, возможно, найдут свое применение в системах доставки лекарственных препаратов в организме, поскольку они способны заключать в себя молекулы лекарств и разлагаются с контролируемой скоростью. Кроме того, полимерные оболочки можно модифицировать с помощью биологических молекул для решения специфических задач [50].

Но самыми перспективными наноматериалами являются материалы на основе углерода. Никакие другие материалы не обладают таким огромным разнообразием структур. Аллотропия и существование множества вариантов структур углерода связаны со способностью этого элемента образовывать три типа гибридных орбиталей (sp , sp^2 и sp^3). В составе наноматериалов углерод присутствует в форме алмаза, графита и фуллеренов с sp^3 , sp^2 и sp – sp^2 -гибридизацией соответственно.

Алмаз — естественная аллотропная форма углерода в состоянии sp^3 -гибридизации. В этом состоянии каждый атом углерода связан ковалентной связью с тремя другими атомами углерода. Такое строение делает его самым прочным природным материалом. В отличие от графита алмаз изотропен. Чистый алмаз отличается высоким электрическим сопротивлением, низкой термоустойчивостью, он прозрачен и бесцветен. Как и в случае многих других материалов, дефекты структуры приводят к изменению этих свойств.

На основе алмаза создано два типа наночастиц — наноалмазы и алмазные нановискеры. Наноалмазы часто получают методом высокоэнергетической экзотермической детонации, в результате чего образуются твердые сферические наночастицы размером около 4 нм [14]. Нановискеры на основе алмаза синтезируют методом воздушно-плазменного травления поликристаллических алмазных пленок, размер получаемых частиц составляет от 60 до 300 нм [15].

Наноалмазные частицы состоят из ядра, содержащего единственный кристалл алмаза и окруженного оболочкой из функциональных групп. Углерод в ядре находится в состоянии sp^3 -гибридизации, а в оболочке — либо в состоянии sp^3 , либо sp^2 . Состав оболочки может меняться в зависимости от типа химической модификации. Свойства наноалмазов можно контролировать путем модификации оболочки различными функциональными группами [16]. К уникальным свойствам наноалмазов относится оптическая прозрачность, большое значение удельной площади поверхности, химическая инертность и твердость. Благодаря своей химической инертности и уникальным физическим свойствам наноалмазы могут иметь разнообразное биологическое назначение, в частности могут использоваться для доставки лекарств, генов или белков, а также в качестве покрытий для имплантируемых материалов, биосенсоров и нанороботов биомедицинского назначения. Кроме того, обладая твердостью и химической инертностью, а также имея равномерное распределение по размеру и контролируемый состав оболочки, наноалмазы и алмазные нановискеры могут найти применение в качестве полевых эмиттеров в вакуумной микроэлектронике [15].

При нагревании до 1200–1800 К наноалмазы превращаются в углерод с луковичной структурой (УЛС). Температура перехода зависит от размера частиц, а сам переход начинает проявляться в направлении от поверхности частицы к ее центру. УЛС можно превратить обратно в наноалмаз под действием облучения электронами; этот процесс распространяется в глубину частицы и приводит к образованию единичного

кристалла или поликристаллической структуры. Другим способом получения наночастиц УЛС является использование графитовой дуги в деионизованной воде; в этом методе между очень чистыми графитовыми электродами под действием электрического тока создается электрический разряд [17].

Углерод с луковичной структурой имеет сферическую организацию и состоит из двух, трех или множества концентрических слоев. С ростом давления и деформации материала количество этих слоев имеет тенденцию увеличиваться. Диаметр УЛС находится в диапазоне от 1 нм до 2 мкм [17]. Эти структуры отличаются очень большим значением удельной площади поверхности, что наводит на мысль возможность их использования в газохранилищах [18].

Одной из самых изученных аллотропных форм природного углерода является графит. Идеальный графит состоит из плоских гексагональных колец, образованных ковалентно связанными между собой атомами углерода с sp^2 -гибридизацией; отдельные слои удерживаются вместе ван-дер-ваальсовыми силами. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия осуществляются за счет делокализованных электронов, которые перемещаются от одного слоя к другому. Расстояние между атомами углерода в прилегающих слоях в два с лишним раза больше, чем расстояние между соседними атомами, лежащими в одной плоскости (рис. 12.1). Из-за такого расположения атомов графит проявляет анизотропные свойства. Электропроводность и теплопроводность графита, а также его механическая прочность выше вдоль плоскостей, чем в перпендикулярном направлении. Слои графита могут проскальзывать относительно друг друга, поскольку ван-дер-ваальсовы силы относятся к разряду слабых взаимодействий. По этой причине графит находит применение в качестве смазочного материала. Идеальный графит является химически инертным материалом, однако в присутствии примесей и при наличии дефектов структуры его химическая активность возрастает.

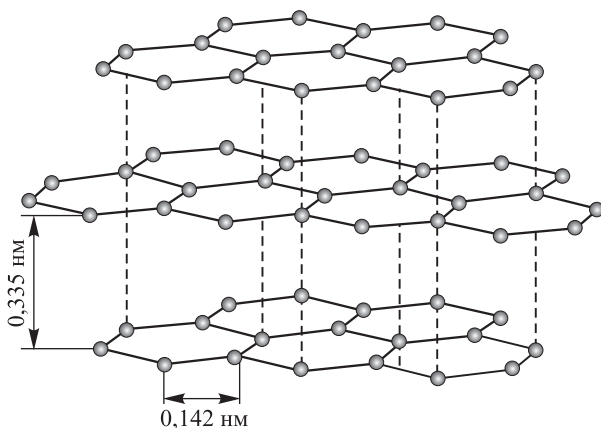


Рис. 12.1. Идеальная структура графита

Многие природные и искусственные материалы, такие как эксфолиированный (листовой) графит, сажа и углеродное волокно, основаны на кристаллитах графита. Эксфолиированный графит состоит из слоев кристаллитов графита, разделенных расстоянием от 0,335 до 50 нм. Его получают с помощью интеркаляции металлов с последующим расщеплением графеновых слоев под действием растворителя или газа. Для высушивания и дальнейшего расслоения слоев можно применить термический удар. Образующийся материал состоит из нанопластинок графита, характеризующихся высоким значением отношения длины к толщине. Эксфолиированный графит используют для получения высокопрочных углеродных композитов, добавляют вместо асбеста в автомобильные прокладки, включают в состав материалов для изготовления затворов и клапанов вакуумных печей, а также термоизоляционных материалов [19, 20]. Этот материал привлек внимание исследователей еще и благодаря своей чрезвычайно высокой сорбционной емкости, которая делает его пригодным для сбора разлитой нефти и хранения газообразного водорода [21, 22].

Другим синтетическим углеродным материалом, состоящим из кристаллитов графита, является технический углерод. Частицы технического углерода очень твердые и в основном имеют кристаллическую структуру, что отличает это вещество от сажи (последняя иногда образуется в результате природных и промышленных процессов) [23]. По размеру частицы технического углерода могут сильно различаться — от грубых до очень мелких (≤ 100 нм), в зависимости от способа получения. По мере уменьшения диаметра частиц от 300 до 10 нм происходит повышение значения рН и степени кристалличности [24]. Разработаны четыре основных способа получения технического углерода: канальный, термический, печной и ламповый. В канальном способе удается произвести наиболее мелкие частицы с наибольшей удельной площадью поверхности, которые, однако, содержат много летучих примесей. При термальном разложении получают самые грубые частицы с наиболее низким значением удельной площади поверхности. В двух оставшихся процессах частицы продукта имеют промежуточный размер. Технический углерод применяют в качестве армирующего наполнителя для резины, полимеров и пластмасс [24–27].

Одним из наиболее широко используемых синтетических углеродных материалов является углеродное волокно (УВ). Его получают путем термической обработки органических предшественников, таких как полиакрилонитрил, вискоза или деготь. Начиная с 1960-х гг., УВ находит применение в составе композиционных материалов для улучшения механических свойств и термостойкости. Диаметр УВ составляет около 10 мкм [28, 29]. Морфология типичного УВ, полученного из полиакрилонитрила, показана на рисунке 12.2.

Другой тип углеродных волокон получают путем химического осаждения из газовой фазы (CVD) или выращиванием из газовой фазы под действием пиролиза углеродсодержащих газов на металлическом катализаторе. Хотя выращивание из газовой фазы может применять-

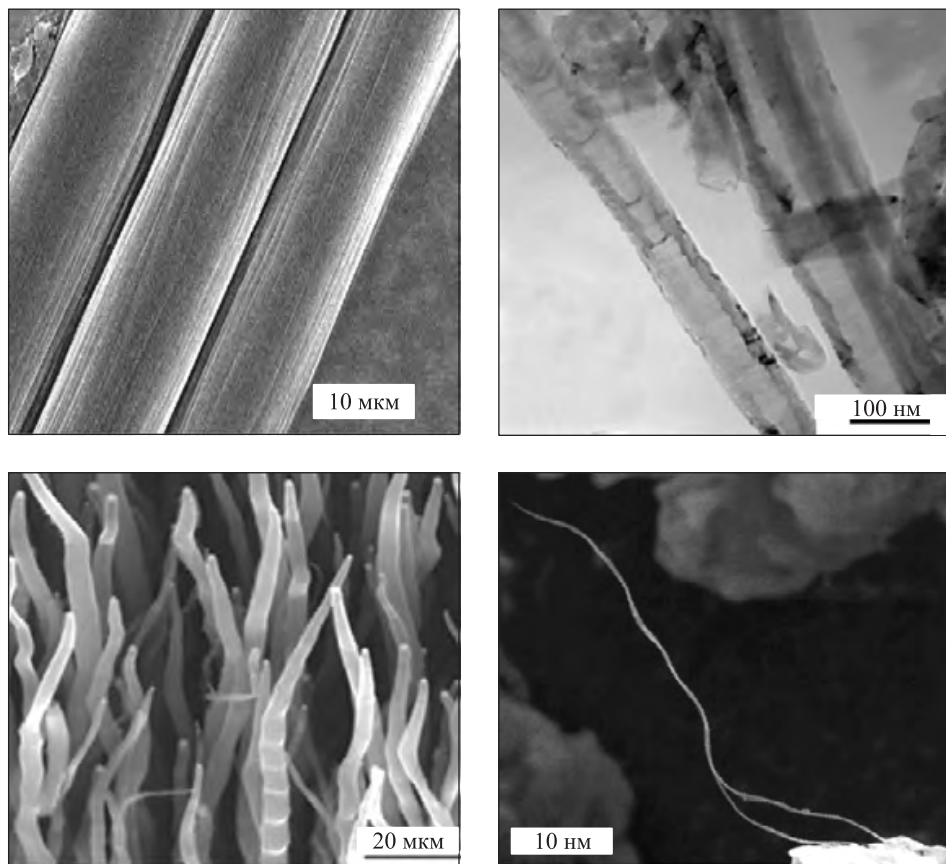


Рис. 12.2. СЭМ-изображения углеродных волокон, нановолокон и многостенных нанотрубок, а также снимок одностенных нанотрубок, полученный методом ПЭМ

ся для синтеза волокон с таким же диаметром, как у традиционных УВ, этим способом можно получить также углеродные нановолокна (УНВ), проявляющие свойства наноматериала. В зависимости от условий синтеза, УНВ могут иметь форму стопки стаканчиков, или последовательности конических графитовых листов (рис. 12.3). Обычно полученные таким образом УНВ имеют диаметр от нескольких до сотен нанометров и длину от долей микрометра до нескольких миллиметров [21].

Единичный слой графита (графен) может образовывать кристаллическую структуру, называемую фуллереном. Фуллерен — аллотропная форма углерода, состоящая из атомов с sp - или sp^2 -гибридизацией. Наиболее распространенным типом фуллерена, который образуется и в природных, и в промышленных процессах, является бакминстерфул-

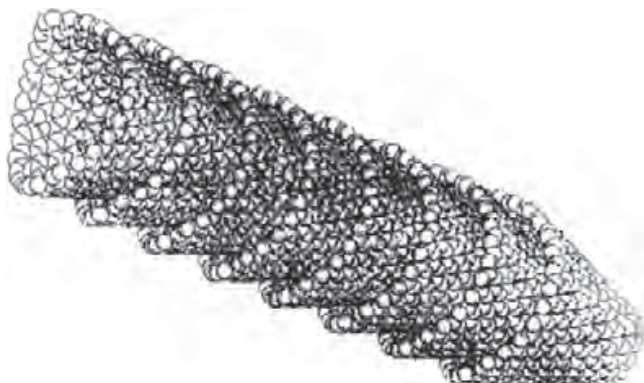


Рис. 12.3. Углеродное нановолокно

лерен*, или фуллерен C60. Это соединение имеет сферическую структуру, построенную из 12 пятичленных и 20 шестичленных углеродных колец; 60 в названии молекулы отражает число атомов углерода в ее составе. Другие варианты фуллерена можно получить, изменяя количество шестичленных колец. Диаметр молекулы фуллерена C60 составляет примерно 1 нм [21]. Фуллерен C60 и родственные ему молекулы уже находят применение в медицине и электронике в аккумуляторах, химических сенсорах и оптических устройствах [30].

Углеродные нанотрубки (УНТ) — это цилиндрическая разновидность фуллерена, в которой присутствует углерод только в состоянии sp^2 -гибридизации. Впервые УНТ были описаны в 1991 г. японским исследователем Ииджимой из исследовательской лаборатории NEC Corporation [31]. Угол, под которым сворачивается слой графена для образования цилиндра в УНТ, определяется координатами хирального вектора — парой целых чисел (n , m). Свойства УНТ зависят от их диаметра и величины хирального вектора. Современные способы синтеза УНТ позволяют получать образцы с различным диаметром и хиральностью. УНТ обладают очень привлекательными электрическими и механическими свойствами, термической стабильностью, легкостью, а также самым высоким пределом прочности среди всех синтетических волокон [32].

УНТ получают методами дугового разряда, лазерного испарения или CVD. В методе дугового разряда под действием высокой температуры происходит сублимация углерода с поверхности отрицательного графитового электрода. Длина УНТ, получаемых таким способом, может достигать 50 мкм. В случае лазерной абляции в реакторе с высокой температурой и атмосферой инертного газа импульсы лазерного излучения способствуют испарению углерода с графитовой матрицы.

* Это соединение названо в честь Ричарда Бакминстера Фуллера (1895–1983) — американского архитектора, дизайнера, инженера и изобретателя. — *Прим. перев.*

УНТ образуются на охлаждаемой поверхности реактора в результате конденсации. Этот метод отличается более высоким выходом (70%) по сравнению с методом дугового разряда или CVD, но является самым дорогостоящим. При химическом осаждении из газовой фазы (CVD) под действием высокой температуры происходит разложение газообразных углеводородов, углерод адсорбируется на частицах металлического катализатора (обычно никеля, кобальта или железа) и растет, образуя нанотрубки. Чаще всего данный метод используют для промышленного производства УНТ в связи с оптимальным соотношением выхода и затрат. После синтеза для удаления аморфного углерода и остатков катализатора иногда применяют кислотную обработку, хотя следует учитывать, что чрезмерная обработка наносит вред целостности структуры. В настоящее время ведутся исследования, направленные на усовершенствование процессов синтеза с целью повышения выхода и увеличения длины УНТ [21].

Существуют две «идеальные» формы УНТ: многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) и одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ). МУНТ состоят из многих слоев графена (от 5 до 50) и имеют диаметр от 10 до 50 нм. Расстояние между слоями примерно такое же, как в графите, и отдельные слои также могут скользить относительно друг друга [33]. МУНТ могут быть цилиндрическими, коническими или многогранными, могут быть организованы в виде матрешки, спирали или в форме «рыбьего скелета». На рисунках 12.2 и 12.3 представлены МУНТ, синтезированные методом CVD.

Одностенные углеродные нанотрубки состоят из единственного слоя графена, имеют диаметр около 1 нм и длину, которая может в тысячи раз превышать диаметр. В результате ван-дер-ваальсовых взаимодействий ОУНТ часто самостоятельно организуются в пучки, которые в длину могут достигать нескольких микрометров (см. рис. 12.2). ОУНТ могут скользить по поверхности друг друга внутри пучков, однако с помощью облучения электронами между ними можно создать ковалентные связи; в результате модуль упругости и модуль сдвига повышаются [34]. Диаметр ОУНТ зависит от размера металлических наночастиц, на которых они растут, и обычно составляет от 0,7 до 3 нм [35].

Углеродные нановолокна и углеродные нанотрубки обладают целым рядом уникальных свойств, что позволяет использовать эти наноматериалы в самых разных областях. Благодаря высокой механической прочности и низкой плотности их включают в состав многих композитов, которые применяются для создания спортивного инвентаря, изделий автомобильной и аэрокосмической промышленности, а из-за легкости, большой удельной площади поверхности, гибкости и высокой теплопроводности, УНТ используют в качестве армирующей добавки в полимерных композиционных материалах. Углеродные нановолокна сильно уступают углеродным нанотрубкам по механической прочности или плотности, но они значительно дешевле; кроме того, их легче синтезировать в определенной форме и ориентации [37]. В результате

углеродные нановолокна широко применяются в составе многих легких композиционных материалов для повышения прочности, а также в аккумуляторах, например в литиевых батарейках для мобильных телефонов [1].

Благодаря развитой поверхности и гидрофобным свойствам УНТ могут применяться в природоохранных технологиях в качестве адсорбентов. Кроме того, в зависимости от хиральности, УНТ могут быть проводниками или полупроводниками, что позволяет задействовать их для создания электронных устройств, например сверхпроводников, кабелей и квантовых компьютеров [1]. Включение УНТ в такие конструкционные материалы, как бетон или структурный пластик, может позволить контролировать состояние материала в режиме реального времени [36].

Притягательность наночастиц для медицины и биологии объясняется тем, что их размеры меньше размеров клеток (обычный размер клеток — от 10 до 100 мкм) и сравнимы с размерами вирусов (от 20 до 450 нм) и белков (от 5 до 50 нм). Именно поэтому было предложено использовать ОУНТ в качестве инфракрасных фотосенсибилизаторов для уничтожения раковых клеток [6]. Кроме того, способность окисленных ОУНТ сорбировать белки на своей боковой поверхности позволила создать конъюгаты белков с нанотрубками, которые могут служить переносчиками белков [7]. Благодаря низкой плотности УНВ, ОУНТ и МУНТ, а также их способности имитировать биологические структуры, было предложено использовать эти материалы в качестве структурной основы костных имплантатов и для регенерации нервных тканей [38–42].

12.3. Потенциальная опасность наноматериалов

Уникальные физико-химические свойства синтетических наноматериалов, безусловно, имеют большую ценность для развития технологий. Однако те же самые свойства являются причиной возможного токсического воздействия этих веществ на биологические системы. Из-за своего малого размера отдельные наночастицы и их агрегаты при вдыхании могут проникать глубоко в легкие, куда более крупным частицам путь закрыт. Кроме того, эти частицы могут проходить через ткани и клеточные мембраны, удаляясь от места первичного контакта. Помимо малого размера, наночастицы характеризуются большим значением удельной площади поверхности, что способствует их взаимодействию с биологическими системами. Высокоразвитая поверхность может увеличить адсорбцию физиологических поверхностно-активных веществ и макромолекул, а соответственно, поменять поверхностные свойства наноматериалов. В одном исследовании было показано, что образующиеся при горении наночастицы углерода и кремния могут связывать ПАВ в легких, изменяя при этом свои химические свойства, соответственно, меняется и их токсическое воздействие [5]. Более того, связывание таких макромолекул, как белки, может приводить к их денатурации

и потере функций, что в результате может запустить каскад разрушительных процессов в организме. Некоторые наноматериалы способны имитировать различные биологические структуры и связываться с рецепторами клеточной мембраны, нарушая нормальный метаболизм и функции клеток.

По мере уменьшения размера частиц увеличивается соотношение количества атомов на их поверхности к количеству атомов внутри частицы, что приводит к увеличению поверхностной энергии. Это усиливает реакционную способность наночастиц с окружающими макромолекулами в организме и может отразиться на нарушении нормального функционирования клеток и тканей. За счет малого размера, высокоразвитой поверхности и повышенной поверхностной энергии наночастицы с большой вероятностью могут оказать на биологическую систему иное воздействие, чем характерно для более крупных частиц того же материала. Таким образом, существует острая необходимость оценивать возможную опасность контакта с наноматериалами [52, 53].

Для оценки потенциальной токсичности наноматериалов важно изучить пути возможного контакта организма с наноматериалами, а также результативность естественных механизмов защиты в соответствующих системах и органах. Наноматериалы, использующиеся в составе промышленных и коммерческих продуктов, могут попадать в организм разными путями, но чаще всего они проникают через кожу, по дыхательным путям и через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) [54].

12.3.1. Кожа

Большая поверхность кожного покрова в первую очередь наводит на мысль о токсическом воздействии наночастиц в результате непосредственного контакта с наноматериалом, но не стоит забывать, что кожа выполняет ведущую роль в защите от негативных внешних воздействий. Кожа состоит из двух основных слоев — эпидермиса и дермы. Эпидермис, внешний слой кожи, состоит, главным образом, из нескольких слоев кератиноцитов с разной степенью дифференцировки клеток. Кератиноциты зарождаются в более глубоких слоях кожи, по мере приближения к поверхности они начинают вырабатывать новые белки и накапливать кератины. Когда кератиноциты достигают поверхности, они шелушиваются в виде мертвых клеток. В здоровой коже эпидермис обеспечивает защиту более глубоким слоям дермы, которая формирует 90% кожной ткани и состоит, в основном, из соединительной ткани, имеет широкую сеть кровеносных и лимфатических сосудов, содержит тканевые макрофаги и различные типы чувствительных нервных окончаний [55].

Чтобы достичь кровеносных и лимфатических капилляров дермы, попадающие на кожу вещества должны преодолеть несколько слоев клеток. Основным барьером для всасывания веществ служит ороговевший верхний слой эпидермиса, являющийся биологически инертным в результате кератинизации. Но если вещества проходят через этот верхний слой, все последующие слои могут быть преодолены ими значитель-

но быстрее [56]. Данных о проникновении наноматериалов в организм через здоровую кожу получено немного. Однако доказано, что флуоресцентные шарики микрометрового диаметра в местах сгибов здоровой кожи в результате естественных движений, например при вращении запястья, могут проходить через эпидермис в дерму [57]. Кроме того, в экспериментах с крысами было показано, что при инъекции в верхний слой дермы квантовых точек с диаметром 37 нм эти частицы начинают проникать в лимфатические сосуды, достигают региональных лимфатических узлов, накапливаются в печени, почках, селезенке и в других органах [58].

12.3.2. Дыхательные пути

Дыхательные пути могут обеспечивать контакт организма с наночастицами в том случае, когда эти наночастицы находятся в воздухе и попадают в организм при дыхании. Дыхательные пути подразделяют на три основных отдела: носоглотку и гортань, трахеобронхиальный и легочный. В альвеолах осуществляется газообмен между вдыхаемым воздухом и кровью. Наночастицы (размер менее 2,5 мкм) могут попасть в дыхательные пути с воздухом.

Основная часть дыхательных путей защищена слоем слизи, главная функция которой состоит в захвате попавших с воздухом частиц и бактерий, а также в создании диффузионного барьера для осевших частиц и газообразных примесей из воздуха [59]. Под слоем слизи располагаются клетки реснитчатого эпителия, каждая из которых имеет от 25 до 100 ресничек [60]. У здорового человека эти реснички постоянно находятся в движении, перемещая слизь и захваченные частицы посредством механизма мукоцилиарного клиренса к глотке, где слизь проглатывается. Частицы, осевшие в тех отделах легкого, где реснитчатый эпителий отсутствует, захватываются макрофагами (фагоцитирующими клетками) и доставляются к мукоцилиарной системе. Мукоцилиарный механизм — один из важнейших защитных механизмов, осуществляющий местную защиту слизистой оболочки органов дыхания [61]. Высокая вязкость слизи является важнейшим свойством, обеспечивающим защитную функцию слизи и ее участие в мукоцилиарном механизме и торможении диффузии. Серьезные изменения состава слизи в результате хронических заболеваний бронхов (таких как астма, хронические бронхиты, кистозный фиброз и др.), а также накопление наночастиц могут привести к изменению вязкости слизи и нарушить механизм мукоцилиарного клиренса [62]. Кроме того, снижение поверхностного натяжения слизи в результате изменения ее состава может способствовать большему контакту попавших с воздухом частиц с клетками эпителия, в результате чего повышается вероятность проникновения этих частиц в организм [63].

Место оседания наночастиц в дыхательных путях имеет большое значение для скорости их выведения и потенциальной токсичности [64]. Частицы, оседающие в передней части носа, где нет реснитчато-

го эпителия, остаются на месте, пока не удаляются при сморкании или чихании, тогда как частицы, попавшие в участок, покрытый реснитчатым эпителием, обычно вымываются и проглатываются в течение часа после попадания в организм. Частицы, осевшие в трахеобронхиальном отделе, обычно переносятся в глотку и проглатываются в первые сутки. Их выведение из альвеол осуществляется, главным образом, фагоцитозом, затем в действие вступает механизм мукоцилиарного клиренса. Однако этот процесс является гораздо более медленным, что дает попавшим в организм частицам больше времени для диффузии в эпителий или лимфатическую сеть.

Наноматериалы, находящиеся в эпителии легких на протяжении нескольких лет, могут повышать риск возникновения рака легких [54]. Было показано, что введенные в трахею наночастицы диоксида титана (TiO_2) размером 20 нм значительно легче проникают в легкие, чем мелкие частицы (напомним, что мелкими считают частицы размером от 0,1 до 2,5 мкм; они также способны проникать в дыхательные пути при вдыхании воздуха и оставаться в легких, но их свойства отличаются от свойств наночастиц). В некоторых случаях малый размер наночастиц позволяет им избежать атаки иммунной системы и остаться в организме. Наночастицы с большим аспектным отношением (как в случае УНТ) могут нарушать течение нормального клиренса и начинают накапливаться в организме. Например, в случае асбестовых волокон из-за неполного фагоцитоза макрофагами дыхательных путей в легких накапливаются волокна, что, в конечном итоге, приводит к болезням легких и раку [65]. Кроме того, в экспериментах по введению в трахею макрофагов, содержащих захваченные в результате фагоцитоза наночастицы, было замечено затруднение интерстициального доступа [66]. Это означает, что наночастицы либо слишком быстро диффундировали в легочную ткань, чтобы макрофаги могли их эффективно удалить, либо они были слишком малы, и клетки не воспринимали их в качестве чужеродного материала. Схема клиренса и переноса наночастиц, попавших в дыхательные пути, отражена на рисунке 12.4.

12.3.3. Желудочно-кишечный тракт

Наночастицы, выведенные из дыхательных путей с помощью мукоцилиарного механизма, могут оказаться в ЖКТ. Кроме того, они могут попадать туда напрямую с водой, пищей или с лекарствами, если используются в качестве системы доставки лекарств. ЖКТ покрыт слизистой оболочкой, состав которой напоминает слизистую оболочку, покрывающую дыхательные пути. Функцией слизистой оболочки ЖКТ является осуществление селективного всасывания питательных веществ [67].

После попадания в ЖКТ наночастицы вскоре выводятся, но иногда они попадают в циркуляцию и начинают накапливаться в различных органах (см. рис. 12.4). В одном исследовании крысам давали проглотить меченный радиоактивной меткой модифицированный фуллерен

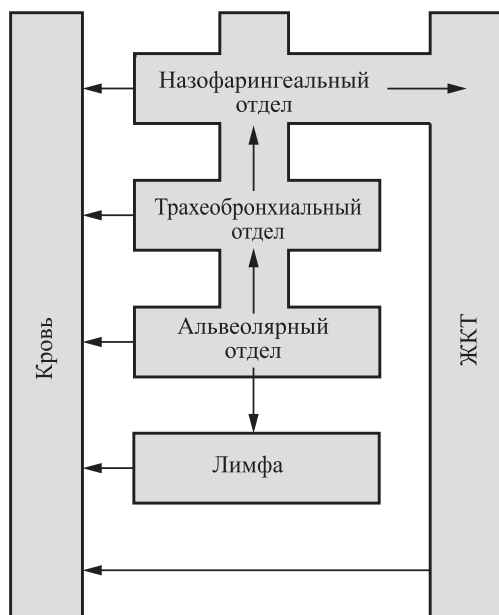


Рис. 12.4. Перемещение и клиренс наночастиц, попавших в дыхательные пути

С60. Около 98% вещества было выведено с экскрементами в течение 48 ч, тогда как оставшиеся 2% попали в кровь и были выведены с мочой [68]. В другом исследовании крысы заглатывали частицы TiO_2 , которые из ЖКТ попадали в кровь и потом накапливались в печени [69].

12.3.4. Система кровообращения и другие системы органов

Наноматериалы способны не только вызывать локальное повреждение кожи, дыхательных путей и ЖКТ, но могут иногда проходить сквозь слой эпителия, попадать в систему кровообращения и циркулировать в организме, воздействуя на различные системы и органы [70]. Всасывание наночастиц в эпителий дыхательных путей и их последующее системное распространение было обнаружено у хомячков [7] и у людей [72]. Когда наночастицы попадают в кровоток, возникает опасность их системной циркуляции и накопления. Органами-мишенями могут стать сердце, печень и почки. Такие важные органы, как головной мозг, плацента и яички, защищены барьером, ограничивающим доступ некоторых веществ из кровотока [73]. Однако, как выяснилось, некоторые наноматериалы способны проникать через гематоэнцефалический барьер [74]. Это означает, что, возможно, они также способны проникать в яички и плаценту, попадать в сперматозоиды и нарушать процесс развития плода.

12.4. Способы оценки токсичности

Под токсичностью понимают степень опасности, которую вещество или материал представляет для биологических систем на уровне целых организмов, отдельных систем, органов, тканей или клеток [75]. Методы исследования токсичности можно подразделить на те, что применяются для анализа внутри живых организмов (*in vivo*), и те, что выполняются в искусственной среде вне живых организмов (*in vitro*) [76]. В качестве моделей для экспериментов *in vivo* используют мышей, крыс, хомячков, морских свинок, кроликов и приматов. В качестве моделей для анализа *in vitro* применяют отдельные ткани (например, тканевые срезы), клеточные системы (например, выделенные клетки) и внутриклеточные системы (например, макромолекулы).

При выборе системы для проведения анализа следует учесть все достоинства и недостатки конкретного метода. Очевидно, что эксперименты на живых животных имеют такие преимущества, как наличие информации об ответе со стороны всех защитных систем организма. Однако эксперименты на животных значительно дороже и сложнее, чем эксперименты *in vitro*. Кроме того, данные, полученные в экспериментах *in vivo* для разных видов животных, могут различаться. Например, рак и другие поражения легких, вызванные частицами технического углерода, были обнаружены только у крыс, но не возникали у мышей, хомячков, морских свинок, кроликов и приматов [77].

Хотя современные методы анализа *in vitro* не могут заменить исследований на живых организмах, они являются удобным инструментом для скрининга токсичных материалов и изучения процессов, протекающих в коже, легких и других органах [78]. Кроме того, работая с культурами, в которых присутствует только один тип клеток, можно быть уверенным в том, что за полученный результат ответственен именно данный тип клеток [79]. Бесклеточные системы *in vitro* также можно использовать для изучения токсичности материалов. Например, анализ растворимости материалов в физиологических растворах помогает предсказать возможность их распределения в организме [11].

В экспериментах *in vitro* клетки обычно культивируют на чашках, обрабатывают исследуемым материалом и проводят анализ по конечной точке. Культуру клеток организма, полученную при первом посеве, называют первичной культурой. После пересева клеток первичной культуры получают так называемую клеточную линию, а если клетки переживают трансформацию и становятся «бессмертными» (в них отключаются гены, регулирующие клеточный цикл), получается непрерывная, или постоянная, клеточная линия. Непрерывные клеточные линии часто применяются в экспериментах *in vitro*, поскольку их можно пересевать сколько угодно, тогда как обычные клеточные линии в конечном итоге отмирают [80].

Для интерпретации результатов анализа токсичности *in vitro* необходимо иметь представление о структуре эукариотической клетки. Клетки являются основными структурными единицами живых орга-

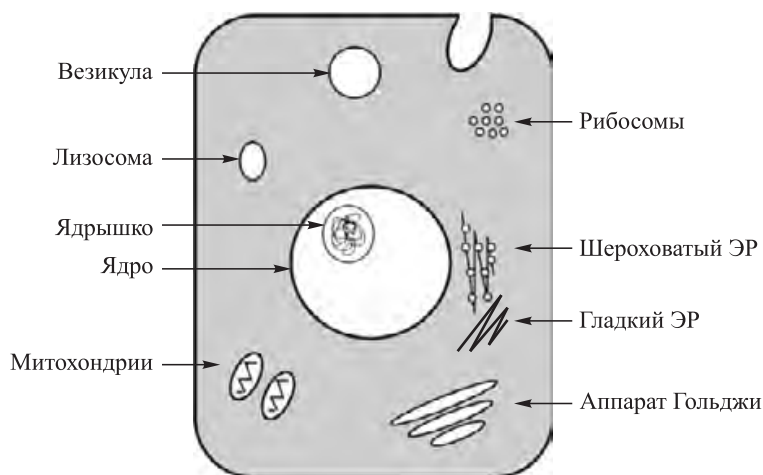


Рис. 12.5. Типичная животная клетка

низмов. Диаметр животных клеток обычно составляет от 10 до 20 мкм. В каждой клетке обычно содержится ядро (или несколько ядер), в котором хранится ДНК, а также некоторые связанные с мембраной органеллы, позволяющие клетке осуществлять специфические функции. Для оценки цитотоксичности материалов наиболее важную роль играют такие клеточные органеллы, как митохондрии, обеспечивающие клетку энергией, лизосомы, в которых происходит расщепление веществ, и эндосомы, где захваченные клеткой вещества упаковываются и накапливаются. В аппарате Гольджи происходит модификация секретируемых продуктов и упаковка их в специальные везикулы для выведения из клетки. На рибосомах, имеющих очень маленький размер, происходит синтез белка. Шероховатый эндоплазматический ретикулум (ЭР), поверхность которого покрыта рибосомами, также участвует в образовании белка. Гладкий ЭР участвует в синтезе липидов, метаболизме углеводов, расщеплении лекарств и связывании рецепторов клеточной поверхности [81]. Гибкая плазматическая мембрана позволяет клеткам перемещаться и изменять форму при изменении структуры цитоскелета [82]. Схема строения типичной животной клетки представлена на рисунке 12.5.

Цитоскелет необходим клетке для поддержания ее структуры; он состоит из трех основных полимерных компонентов: актиновых филаментов, промежуточных филаментов и микротрубочек [80]. Актин — это один из белков, присутствующих в эукариотических клетках в наибольшем количестве [83]; актиновый цитоскелет построен из полимеризованного актина и различных связанных с ним белков. Актиновые филаменты находятся в состоянии постоянной сборки и разборки и имеют большое значение для формы и подвижности клетки, для клеточного деления, эндоцитоза, секреции, перемещения органелл и кле-

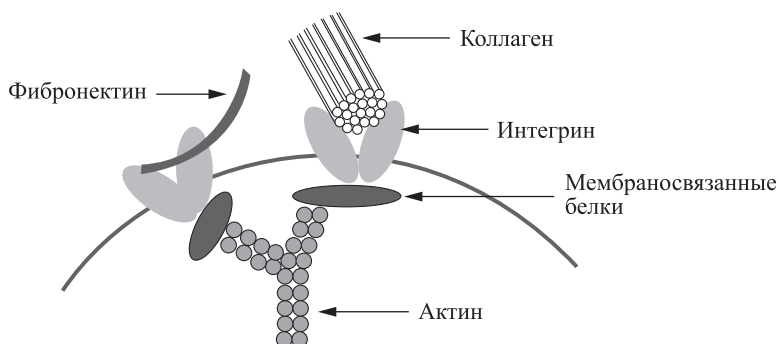


Рис. 12.6. Внеклеточный матрикс

точной адгезии [83–85]. Среди всех полимерных молекул цитоскелета именно актин находится ближе всего к плазматической мембране, связывая трансмембранные белки и сигнальные комплексы, находящиеся внутри клетки, с участками связывания во внеклеточном матриксе. Интегрины — это интегральные мембранные рецепторы, которые связывают мембраносвязанные белки и белки внеклеточного матрикса [82]. Фибронектин и другие внеклеточные белки могут влиять на функции клетки, в том числе на перестройку цитоскелета и активность генов в ядре (рис. 12.6). Способность клеток к адгезии представляет особый интерес, поскольку взаимодействие клеточной мембраны с наночастицами может влиять на функционирование актина, а межклеточная адгезия необходима для тканевого морфогенеза и гомеостаза [86]. Гены актина мало изменились в процессе эволюции, и в условиях *in vitro* молекулы актина из разных видов организмов функционально взаимозаменяемы, поэтому результаты исследования актина в клетках мышей или крыс могут быть экстраполированы на человеческие клетки [85].

В экспериментах *in vitro* в качестве модели специфического органа служат различные типы клеток или морфологически и функционально различные варианты клеток. Клетки, выделенные из разных органов и тканей, имеют разные функции, и в них экспрессируются разные гены. Общая клеточная токсичность представляет собой токсичность для всех типов клеток, тогда как органоспецифическая токсичность описывает воздействие токсического вещества на клетки, полученные из конкретного органа [87].

При анализе влияния токсичных веществ на кожу и дыхательные пути в качестве клеток-мишеней можно использовать фибробласты, эпителиальные клетки и альвеолярные макрофаги [76, 88]. Фибробласты — это клетки соединительной ткани, которые поддерживают структуру тканей и способствуют заживлению ран, а эпителиальные клетки образуют ткань, выстилающую кожу и внутренние полости организма. Среди всех эпителиальных клеток чаще всего изучают эпителиальные клетки легких, которые выстилают дыхательные пути, а также керати-

ноциты кожи. Кератиноциты участвуют в первой стадии восстановления эпидермиса и представляют собой подходящую модель для предсказания токсического воздействия на кожу. Характерными особенностями кератиноцитов является их крупная полигональная структура с большим везикулярным ядром, окруженным сетью нитей и волокон [55].

В отличие от фибробластов и кератиноцитов альвеолярные макрофаги являются фагоцитирующими клетками, т. е. их функция состоит в поглощении чужеродного материала [89]. Именно по этой причине фагоцитирующие клетки могут быть более чувствительными к воздействию наноматериалов, чем нефагоцитирующие клетки. При нарушении клиренса, опосредованного макрофагами, в легких могут накапливаться даже нетоксичные материалы, что сказывается на здоровье. Исследования показывают, что функция альвеолярных макрофагов полностью нарушается, когда внутриклеточное пространство на 60% заполняется твердым содержимым [90].

Наночастицы, проникающие в кровь или лимфу и оттуда попадающие в различные органы, могут подвергаться воздействию многих других типов клеток, включая клетки почек, печени и головного мозга. Поэтому клеточные линии, представляющие эти органы, также используются в моделях *in vitro*. Часто для изучения возможности применения наноматериалов в ортопедии в качестве модели используют костные клетки — остеобласты. В таблице 12.1 представлен неполный список клеточных линий, наиболее часто применяющихся для экспериментов *in vitro*.

Анализ токсичности по конечной точке заключается в определении жизнеспособности клеток после определенной длительности воздействия, а также в изучении различных деталей, объясняющих механизм токсического действия. В этом контексте очень важен механизм клеточной смерти, поскольку он взаимосвязан с иммунным ответом. Существуют два основных механизма гибели клеток: некроз и апоптоз. Некроз является результатом массового повреждения клеток и приводит к распространению клеточного дебриса (продукты клеточного распада)

Таблица 12.1

Некоторые клеточные линии, наиболее часто используемые в моделях *in vitro*

Тип клеток	Орган	Основная функция
Кератиноциты	Кожа	Защитная функция (основные клетки дермы)
Макрофаги	Легкие	Захватывают частицы и фрагменты клеток
Астроциты	Головной мозг	Заживление и рубцевание ран
Фибробласты	Легкие, почки	Обеспечивают структурную основу, участвуют в заживлении ран
Остеобласты	Кости	Синтезируют вещества костной ткани

во внеклеточное пространство и к воспалению [73]. Проявлениями некроза являются изменения в морфологии клеток, разрыв плазматической мембраны, набухание цитоплазмы и растворение органелл [91]. Апоптоз — это программируемая клеточная смерть, которая является естественным процессом, необходимым для поддержания баланса между новыми и старыми клетками; этот механизм запускается как физиологическими, так и аномальными сигналами. При апоптозе плазматическая мембрана остается целой и постепенно захватывается другими клетками. Проявлениями апоптоза являются нарушение контакта с соседними клетками, округление формы клетки и уменьшение ее размеров. Среди аномальных сигналов, способных вызвать апоптоз, можно назвать окислительный стресс, вызванный нарушением равновесия между антиоксидантами и реактивными формами кислорода (РФК), голодание в результате недостатка питательных веществ или нарушения их доступа к клеткам, а также отсутствие факторов роста. Отделение эпителиальных клеток от внеклеточного матрикса также вызывает апоптоз [92].

Обычно токсическое действие оценивают по степени повреждения, локализации повреждения, скорости реакции и длительности контакта. Степень повреждения меняется от слабого раздражения до гибели клеток и классифицируется как слабая, умеренная, серьезная или летальная. По характеру локализации выделяют местные и системные повреждения — в зависимости от того, воздействует ли токсичное вещество только на ту ткань, с которой оно вошло в первичный контакт, или проникает в кровоток и повреждает другие органы. По временному параметру токсическое действие подразделяют на немедленное и отсроченное. Например, канцерогенные вещества часто приводят к заметному эффекту лишь через 20 или 30 лет после контакта. Длительность воздействия токсичного вещества может быть краткой (острое воздействие) или большой (хроническое воздействие). Острое воздействие проявляется в результате краткосрочного контакта (дни или недели), хроническим воздействием называют такое воздействие, которое повторяется многократно на протяжении длительного периода времени (месяцы и годы) [75].

На токсический эффект влияют длительность воздействия, доза, сохранение токсичного вещества в зоне контакта, биологическая функция зон контакта, способность защитных механизмов восстановить или заменить поврежденные структуры, способы и степень разрушения токсичного вещества в организме, а также природа и количество веществ, выделяющихся из поврежденных клеток (эти вещества могут оказывать на другие клетки цитотоксическое или стимулирующее действие) [91].

В целом конечной целью токсикологического анализа является выработка норм, защищающих рабочих, общее население и окружающую среду от воздействия новых соединений и материалов. Обычно результаты анализа применяют для оценки потенциального риска от контакта человека с конкретным материалом, а также для выяснения

молекулярных механизмов его токсичности. Кроме установления норм безопасности и защитных мероприятий идентификация ключевых моментов в проявлении токсического действия веществ позволяет предсказывать токсичность новых веществ и пути создания их более безопасных форм [93].

12.5. Токсичность наноматериалов

Из-за быстрого расширения ассортимента наноматериалов изучить воздействие каждого отдельного вещества довольно затруднительно, поэтому необходимо выработать программу предсказания токсичности новых материалов. Для этого нужно собирать информацию о специфических физико-химических свойствах наноматериалов, которые могут иметь отношение к токсичности наноматериалов [9]. К таким свойствам относятся форма, размер, агрегационная способность, свойства поверхности, заряд поверхности, площадь поверхности, кристаллическая структура и химический состав.

Среди наиболее перспективных наноматериалов многие являются соединениями углерода; изучение токсичности этих веществ было проведено фундаментально. Поскольку наноматериалы на основе углерода могут иметь разную кристаллическую структуру, форму, размер и поверхностные свойства, каждый родственный материал может значительно отличаться от остальных по своему токсическому действию. К настоящему моменту исследована токсичность таких углеродных наноматериалов, как технический углерод, наноалмаз, углерод с луковичной структурой (УЛС), фуллерен C60, углеродные нановолокна (УНВ) и углеродные нанотрубки (УНТ).

В техническом углероде, наноалмазах, УЛС и C60 углерод находится в состоянии sp^2 - и sp^3 -гибридизации; частицы таких веществ имеют сферическую форму. Считается, что обычный технический углерод вызывает слабое раздражение кожи, глаз и дыхательных путей, но не является канцерогеном. При краткосрочном вдыхании наночастиц технического углерода в легких может начаться воспалительный процесс [94]. Воздействие технического углерода зависит от размера его частиц: в экспериментах *in vitro* наночастицы технического углерода вызывали более выраженный окислительный стресс, чем микрочастицы [95]. В экспериментах *in vivo* на легкие крыс более сильное воздействие оказывали также более мелкие наночастицы [94, 96].

О токсичности наноалмазов на сегодняшний день известно немного, и пока ничего не сообщалось о том, что этот материал может представлять какую-либо опасность. В частности, было показано, что частицы наноалмаза размером от 2 до 5 нм не вызывали окислительного стресса в нескольких клеточных линиях [97]. Также пока ничего не известно о токсичности УЛС. Например, при изучении влияния этих частиц на фибробласты кожи человека в условиях *in vitro* никакого токсического действия обнаружено не было [98].

В экспериментах *in vitro* С60 оказывал цитотоксическое действие по механизму РФК-опосредованного перекисного окисления липидов клеточной мембраны [99, 100]. В экспериментах *in vivo* С60 оказывал токсическое действие на модельных животных (рыбы), вызывая окислительный стресс и перокисление липидов [101]. Высокая концентрация (200 мкг/мл) С60 и С70 вызывала некроз и апоптоз клеток эмбрионов модельной рыбы (полосатый данио), тогда как молекулы С60, модифицированные гидроксильными группами, оказывали менее выраженное действие и не приводили к апоптозу [102]. Молекулы С60, модифицированные гидроксильными и карбоксильными группами, оказывали меньшее токсическое действие и вызывали более слабый окислительный стресс в фибробластах кожи человека и клетках человеческой карциномы, чем немодифицированные молекулы [103]. Однако в условиях *in vivo* эти результаты не подтвердились: ни модифицированные, ни немодифицированные молекулы С60 не оказывали негативного воздействия на здоровье крыс после подострого периода [104]. Результаты исследований противоречивы, но они указывают на то, что сферические наночастицы углерода могут оказывать токсическое действие на клетки в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*.

Другую важную группу углеродных материалов составляют те, что имеют ламеллярную или цилиндрическую форму и большое значение аспектного отношения (отношения длины к толщине), а именно углеродные волокна (УВ), УНВ и УНТ. Токсическое действие наночастиц углерода с такими характеристиками достаточно подробно изучено, поскольку они очень активно применяются в нанотехнологии. Кроме того, известная ранее токсичность некоторых волокнистых материалов, таких как асбест и стекловолокно, заставляет задуматься о возможной токсичности нановолокнистых материалов. В отличие от УНВ и УНТ углеродные волокна использовались на протяжении многих десятилетий без видимых признаков негативного воздействия на организм человека; кроме того, УВ обычно не вдыхаются с воздухом [105]. Однако даже попавшие в легкие УВ не вызывали пагубных изменений в легких крыс (в экспериментах частицы вводили в трахею на протяжении длительного времени) [106]. Имеющиеся на сегодняшний день данные указывают на то, что УНВ не токсичны. Например, УНВ с низким содержанием металлических примесей не оказывали влияния на остеобласты [107].

Пожалуй, УНТ изучены лучше всех других материалов с большим аспектным отношением частиц. И тем не менее, общая картина токсичности УНТ недостаточно очевидна, поскольку их получают разными способами, и продукт может отличаться по хиральности и чистоте. Для очистки УНТ после синтеза также применяют разные способы, это также существенно влияет на свойства конечного образца. В результате, вполне возможно, что разные образцы УНТ могут оказывать разное токсическое действие. Например, образцы ОУНТ HiPco® (диаметр — 0,8–1,2 нм, длина — 800 нм, содержание железного катализатора — 10%) понижали жизнеспособность клеток значительно сильнее, чем

образцы ОУНТ, полученные методом дугового разряда (диаметр от 1,2 до 1,5 нм, длина — 2–5 мкм, содержание никелевого и иттриевого катализаторов — менее 1%) [108].

Было показано, что в условиях *in vitro* УНТ обычно более токсичны, чем углеродные материалы с не столь большим аспектным отношением. Так, МУНТ оказывали более выраженное токсическое действие на фибробласты кожи человека, чем углерод с луковичной структурой [98]. Также оказалось, что МУНТ и ОУНТ более токсичны для альвеолярных макрофагов, чем С60, поскольку нарушают процесс фагоцитоза [109]. МУНТ и ОУНТ в концентрации 0,01 мг/мл проявляли более выраженную цитотоксичность по отношению к мышинным макрофагам, чем технический углерод [110]. Однако в другом исследовании технический углерод оказался более токсичным для линии человеческих опухолевых клеток, чем МУНТ [111]. Эти данные подчеркивают важность детального изучения каждого материала. Например, несоответствие между результатами может объясняться различием в содержании примесей и в размерах частиц образца.

Доказательство того, что УНТ могут оказывать токсическое действие, было получено в нескольких работах в условиях *in vitro*. Немодифицированные МУНТ токсичны для кератиноцитов кожи человека [113], а немодифицированные ОУНТ вызывали апоптоз эмбриональных почечных клеток [114]. В очень низкой концентрации УНТ, синтезированные каталитическим методом CVD, оказались нетоксичными для эндотелиальных клеток вены пуповины [115]. При выборе небольших концентраций исследователи исходили из того соображения, что УНТ не могут накапливаться в плаценте в большом количестве. Только в одном исследовании *in vivo* была проанализирована токсичность углеродных наноматериалов для кожи человека: добровольцам со склонностью к аллергическим реакциям через накожный пластырь вводили образцы УНТ, при этом никакого раздражающего действия зафиксировано не было [116].

В нескольких экспериментах *in vivo* были предприняты попытки оценить токсичность УНТ при вдыхании. Под воздействием УНТ в легких могут возникать воспаление и фиброз [117–120]. Фиброз, характеризующийся образованием рубцов, происходит в результате попыток репарации вызванных воспалением повреждений. Воспалительные и фиброзные изменения в легких могут прогрессировать и приводить к нарушению дыхательной функции, но могут и прекращаться на различных стадиях [11]. В этой серии исследований УНТ вызывали более сильное патологическое действие, чем наночастицы технического углерода.

В работе Лэма с соавторами однократное введение в трахею мыши одного из трех типов ОУНТ приводило к дозозависимому возникновению гранулем и воспалений [117]. Каждый тип ОУНТ содержал смесь какого-то металла, но природа металла не влияла на развитие гранулем. Мюллер с соавторами вводили в трахею крысам целые (длиной 5,9 мкм) или раздробленные (длиной 0,7 мкм) МУНТ. Было обнаруже-

но, что более длинные цельные УНТ через 60 суток сохранялись в организме в большем количестве [118]. Это соответствует результатам, полученным для асбестовых волокон: более длинные волокна скорее вызывают рак легкого, чем более короткие волокна или те, что растворяются в физиологическом растворе [64]. Уорхейт с соавторами показали, что введение в трахею крысам образцов ОУНТ, содержащих примеси и аморфный углерод, приводило к воспалению и не зависящему от дозы развитию гранулем [119]. Отсутствие дозовой зависимости объяснили способом введения УНТ: образец необходимо было диспергировать в растворе, где он образовывал агрегаты, поэтому подобная ситуация не могла полностью имитировать реальную картину. С целью более точно воспроизведения реальных условий Шведова с соавторами помещали образцы ОУНТ на язык мышей, что приводило к вдыханию наночастиц животными [120]. ОУНТ вызывали воспалительный процесс в легких, причем чем более равномерной была дисперсия наночастиц, тем менее сильным был эффект воздействия. В еще более приближенном к реальным условиям эксперименте Митчелл с соавторами заставляли крыс вдыхать МУНТ вместе с воздухом [121]. У животных не возникало заметного воспалительного процесса в легких или повреждения легочной ткани, однако было отмечено системное изменение иммунной функции.

Аналогично результатам токсикологического исследования модифицированных молекул C60 модификация УНТ также может сказаться на их токсичности. Так, в зависимости от степени модификации, ОУНТ в большей или меньшей степени ингибировали рост эмбриональных почечных клеток человека посредством апоптоза и окислительного стресса [122]. Кроме того, связывание на поверхности УНТ сывороточных белков модулировало токсичность наночастиц и их захват клетками *in vitro* [123].

Агрегация — еще один фактор, который влияет на токсичность. Было исследовано влияние ОУНТ в концентрации до 0,1 мг/л на гладкомышечные клетки аорты крыс. Клетки подвергали воздействию как отфильтрованного (культуральную среду фильтровали, чтобы удалить агрегаты веществ), так и неотфильтрованного образцов ОУНТ. В основном агрегаты ОУНТ были более токсичными, чем профильтрованные образцы, но при высокой концентрации наночастиц оценки цитотоксичности двух вариантов образцов практически не отличались [124].

Металлический катализатор также может играть роль в токсичном воздействии УНТ на клетки. При исследовании влияния примесей в УНТ острого токсического воздействия обнаружено не было, однако концентрация РФК в клетках была выше в случае неочищенных УНТ. Следует заметить, что очищенные УНТ все равно содержали около 2,5% никель-кобальтового катализатора, а также большое количество кислорода на поверхности, что, в свою очередь, может иметь значение для развития окислительного стресса [112]. В другом исследовании очищенные ОУНТ сильнее влияли на жизнеспособность клеток, что объяснялось их большей степенью дисперсности и, как следствие, большей площадью поверхности. Увеличение площади поверхности приводило

к более выраженным морфологическим изменениям и отсоединению клеток. Как и ожидалось, неочищенные ОУНТ стимулировали более сильный окислительный стресс, чем очищенные [125]. Для альвеолярных макрофагов ОУНТ оказались более токсичными, чем МУНТ: в низкой концентрации они нарушали фагоцитоз, а в высокой индуцировали некроз [109]. Однако использовавшиеся в этом исследовании ОУНТ содержали больше примесей, чем МУНТ, что, по-видимому, сказалось на результатах.

Чаще всего для синтеза УНТ в качестве катализаторов используют кобальт (Co), никель (Ni), железо (Fe), кобальт с оксидом алюминия ($\text{Co-Al}_2\text{O}_3$), никель с оксидом алюминия ($\text{Ni-Al}_2\text{O}_3$) и железо с оксидом алюминия ($\text{Fe-Al}_2\text{O}_3$). Их токсическое действие никто не сравнивал, однако есть данные относительно токсичности металлических наночастиц. Например, в условиях *in vivo* 20-нанометровые наночастицы никеля и кобальта, введенные крысам в трахею, вызывали серьезный воспалительный процесс в легких, причем никель был токсичнее кобальта, и оба вида частиц могли вызывать окислительный стресс [126]. В другом исследовании даже малые дозы наночастиц никеля, введенных крысам в трахею, вызывали длительное воспаление [127]. После введения в трахею малых доз (57 и 90 мкг/м³ по 6 ч в сутки на протяжении 3 дней) наночастиц железа со средним диаметром 72 нм у крыс случался окислительный стресс, связанный с провоспалительным ответом [128]. Эти данные говорят о том, что наночастицы никеля, кобальта и железа, присутствующие в составе катализаторов для синтеза УНТ, могут оказывать токсическое действие *in vivo*.

Оксид алюминия обычно считают нетоксичным веществом, однако избыточное содержание его в легких может вызывать умеренное раздражение. Известно, что наночастицы оксида алюминия оказывают на легкие более выраженное токсическое действие, чем просто мелкие частицы этого вещества [126]. Впрочем, в других исследованиях наночастицы оксида алюминия оказывали на жизнеспособность альвеолярных макрофагов лишь очень слабое действие и не влияли на процесс фагоцитоза [129].

Известно, что металлы могут оказывать умеренное токсическое действие, но возможно, в присутствии УНТ характер этого действия меняется критическим образом. Например, кобальт не вызывает болезней легких у рабочих, производящих этот металл, однако в комплексе с карбидом вольфрама, который применяется для получения более тугоплавкого металла, кобальт способен индуцировать развитие тяжелых легочных заболеваний [130].

Дополнительную информацию о токсичности углеродных наноматериалов можно получить на основании данных для других наночастиц. Как было рассмотрено выше для случая углеродных наноматериалов, токсическое действие частиц одинакового состава может значительно меняться в зависимости от размера, кристаллической структуры и свойств поверхности частиц [131]. Например, при введении крысам частиц полистирола размером 64, 202 и 535 нм воспалительный ответ

усиливался с увеличением площади поверхности частиц. Эти результаты подтвердились в экспериментах *in vitro*, в которых концентрация кальция в цитозоле клеток возрастала только после воздействия наночастиц. Кроме того, наночастицы полистирола вызывали появление большего количества РФК, чем просто мелкие частицы [132]. Наночастицы технического углерода (14 нм), TiO_2 (20 нм) и латекса (64 нм) вызывали в организме крыс более сильное воспаление, чем частицы тех же веществ, но более крупного размера (260, 250 и 202 нм соответственно) [133]. Частицы оксида титана с одинаковой кристаллической структурой (анатаз), но разным диаметром (20 и 250 нм) после ингаляции одинаково откладывались в нижней части легких крыс. Нарушение функции альвеолярных макрофагов и воспалительный процесс наблюдались еще целый год после воздействия наночастиц. Наночастицы TiO_2 удерживались в легких и перемещались в легочный интерстиций [134]. Важность этого результата заключается в том, что он показывает, как долго после первичного контакта некоторые наночастицы могут оставаться в легких, что в конечном итоге может привести к развитию рака.

Кристаллическая структура частиц и их поверхностный заряд также сказываются на токсичности. При изучении влияния наночастиц оксида титана на культуру клеток выяснилось, что токсичность не зависела от размера частиц, но строго коррелировала с кристаллической структурой: анатаз оказался в 100 раз более токсичным материалом, чем рутил [135]. Возможно, причиной такого различия было наличие большего количества поверхностных атомов в форме анатаза. Также было показано, что снижение дзета-потенциала коррелировало с ослаблением токсического действия асбестовых волокон [136].

Кроме размера частиц, их кристаллической структуры и состава на токсичность может влиять состав воздуха, вместе с которым они попали в организм. Вдыхание кислот обычно не оказывает токсического воздействия на легкие, однако в сочетании с наночастицами технического углерода кислоты нарушают работу защитного механизма легких. В результате наночастицы технического углерода могут переносить токсичные вещества в глубокие слои легких, что усугубляет положение [137, 138]. Кроме того, наночастицы углерода, способные вызывать слабый воспалительный ответ в организме крыс, в сочетании с озоновыми частицами приводят к гораздо более серьезным последствиям [139].

Во многих исследованиях, посвященных изучению токсичности наноматериалов, было показано, что токсическое воздействие на клетки выражается в окислительном стрессе, нарушении целостности плазматической мембраны и изменении морфологии клеток. При подробном исследовании механизма токсического действия УНТ в условиях *in vitro* выяснилось, что ОУНТ снижали способность клеток к адгезии, причем этот эффект зависел от длительности контакта и дозы. Кроме того, эти наночастицы понижали экспрессию генов, связанных с первой фазой клеточного цикла, и повышали экспрессию генов, связан-

ных с апоптозом, а также понижали экспрессию генов, связанных с передачей сигнала и кодирующих адгезионные белки внеклеточного матрикса (таких как коллаген и фибронектин) [114]. Во многих исследованиях было показано, что вне зависимости от того, оказывают ли наночастицы прямое токсическое действие на клетки или нет, они часто нарушают функционирование каких-то определенных клеток или тканей. В частности, многие наноматериалы изменяют фагоцитарную функцию макрофагов. Так, Ренвик с соавторами [140] обнаружили, что оксид титана в виде мелких частиц и наночастиц нетоксичен для клеток, но он значительно снижает способность макрофагов захватывать другие частицы. Наночастицы алюминия в концентрации 25 мкг/мл в значительной степени нарушали способность клеток к фагоцитозу, но не влияли на жизнеспособность клеток.

Ландборд с соавторами показали, что мелкие частицы и наночастицы углерода в той концентрации, в которой они присутствуют в воздухе промышленных городов, нарушали функцию альвеолярных макрофагов, причем наночастицы делали это сильнее, чем микрочастицы. Кроме того, ОУНТ изменяли процесс фагоцитоза в большей степени, чем МУНТ и фуллерены в той же концентрации [109]. Также было показано, что фуллерены сильнее захватываются альвеолярными макрофагами, чем ОУНТ, но при этом вызывают менее выраженное цитотоксическое действие, чем частицы с более высоким аспектным отношением [142]. Возможно, это связано с разностью длин пучков ОУНТ и агрегатов МУНТ.

Нефагоцитирующие клетки также захватывают наночастицы. Например, методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) было показано, что клетки способны захватывать УНВ (60 и 100 нм) и заключать их в вакуоли [107]. Немодифицированные МУНТ были обнаружены в цитоплазме и в вакуолях кератиноцитов кожи человека [116]. После 24 ч воздействия пучки ОУНТ были обнаружены в эндосомах человеческих клеток легочного эпителия [143]. Однако в другом исследовании УНТ лишь отчасти захватывались клетками легочного эпителия крыс, что вызывает серьезное беспокойство [144]. Токсическое действие может быть связано не только с проникновением частиц внутрь клеток, но и с их связыванием на плазматической мембране. Так, было высказано предположение, что агрегаты ОУНТ на поверхности фибробластов 3Т3 могут ингибировать перенос веществ через клеточную мембрану [145].

Иногда механизм токсического действия материала можно предсказать, сравнивая его свойства со свойствами материалов с известной токсичностью, оталкиваясь от корреляций структура–активность. Одним из материалов с известным механизмом токсического действия является асбест, поскольку подробному изучению его влияния было посвящено множество эпидемиологических и клинических исследований. Наибольший риск развития рака легких в результате контакта с асбестом связывают с частицами длиной более 10 мкм и толщиной от 0,3 до 0,8 мкм [146]. Механизм развития рака в этом случае включает

проникновение волокон в клетки легких, увеличение проницаемости клеточной мембраны, высвобождение протеолитических ферментов и факторов роста, что способствует воспалению и некрозу ткани в пораженном участке, а также к отложению коллагена и образованию рубцов [65].

Была выдвинута гипотеза, что частичный захват клетками других волокнистых наноматериалов может иметь аналогичные последствия. Волокна накапливаются в легочной ткани в том случае, если они не подвергаются химическому расщеплению. Обработка волокон *in vitro* солевыми растворами, близкими по составу к находящимся в биологических системах, в одних случаях приводит к расщеплению волокон на более мелкие фрагменты, а в других — никак не влияет на их структуру. УНТ обычно не растворяются в средах с нейтральным значением pH и сохраняют свою длину. Кроме того, они часто загрязнены примесями металлов, что также отражается на их токсичности. Если судить по токсичности других типов волокон, накопление в легких агрегатов УНТ длиной более 10 мкм с большой вероятностью может вызывать серьезные негативные последствия [65].

Результаты опубликованных на сегодняшний день параметрических исследований говорят о том, что наноматериалы различаются по токсичности. Среди факторов, влияющих на степень токсичности, можно назвать способность к агрегации, кристаллическую структуру, размер, аспектное отношение, состав и поверхностный заряд частиц [119, 131, 135, 136, 141]. По поводу влияния функциональной модификации на биосовместимость частиц единого мнения пока нет [103, 104]. Во многих работах отсутствуют необходимые данные о структуре и свойствах материала, кроме того, пока не разработаны универсальные методы оценки токсичности и анализа механизма токсичности.

12.6. Получение характеристик наноматериалов и определение цитотоксичности по конечной точке

12.6.1. Определение характеристик наноматериалов

Разработано много разновидностей наноматериалов — в зависимости от конкретного предназначения. Кроме того, образцы наноматериалов могут отличаться по размеру частиц, количеству примесей и свойствам поверхности, что связано с методами их получения и очистки. Недостаточно полное изучение свойств этих веществ привело к противоречивости результатов, отмеченной в предыдущих разделах. Поэтому при оценке опасности материала нужно начинать с детального описания его свойств. Иногда до введения в биологическую систему наноматериалы диспергируют в воде или в биологических средах, что также может приводить к изменению некоторых свойств, в силу чего возникает необходимость проведения анализа материала как в чистом виде, так и в виде

дисперсии. Только в этом случае удастся правильно оценить токсическое действие конкретного материала и сравнить полученные результаты с результатами других исследований.

Для изучения размера и морфологии наночастиц в том виде, в котором они были синтезированы, традиционно применяют просвечивающую электронную микроскопию (ПЭМ), сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) и атомно-силовую микроскопию (АСМ). Кристаллическую структуру вещества можно проанализировать с помощью дифракции рентгеновских лучей (РД). Для определения площади поверхности и поверхностной энергии используют, соответственно, метод Брунауэра–Эмметта–Теллера (БЭТ) и обращенную газовую хроматографию (ОГХ). Состав вещества чаще исследуют с применением рентгеновской флуоресценции (РФ), атомно-адсорбционной спектроскопии (АА) и метода индуктивно-связанной плазмы (ИСП) в сочетании с оптической эмиссионной спектроскопией (ОЭС) или масс-спектрометрией (МС). Свойства поверхности веществ изучают с помощью спектральных методов в ультрафиолетовой и видимой области (УФ/видимая), ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье (ИК-Фурье) или комбинационного рассеяния (КР) [147].

После диспергирования наноматериала в растворе может происходить его агрегация, что приводит к изменению размера и морфологии частиц. Размер и морфологию диспергированных материалов изучают с помощью методов оптической микроскопии (ОМ) и СЭМ в режиме естественной среды. Размер частиц также можно оценить методом динамического светорассеяния (ДСР). Заряд поверхности наночастиц в растворе определяют с помощью лазерного доплеровского электрофореза (ЛДЭ). В таблице 12.2 приведены некоторые распространенные методы, применяющиеся для получения характеристик токсичности наночастиц. Перечисленные методы подробнее обсуждаются ниже.

В методе ПЭМ электроны ускоряются в электрическом поле и проходят сквозь образец. При детекции оставшихся в пучке электронов области рассеяния электронов в позитивном изображении выглядят темными, получается изображение в светлом поле. Если детектируют отклонившиеся электроны, получают изображение в темном поле. Разрешение метода ПЭМ ограничено сферическими и хроматическими aberrациями, ПЭМ высокого разрешения позволяет различать детали атомной решетки размером менее 1 нм [148]. Для проведения ПЭМ образец должен быть тонким (менее 100 нм) и сухим (изображение получают в вакууме).

В отличие от метода ПЭМ, в котором электроны проходят сквозь образец, в методе СЭМ изображение получают в результате сканирования поверхности образца с помощью пучка первичных электронов и детекции вторичных электронов, выбиваемых с поверхности. В данном методе на фотоумножитель в основном попадают только электроны из приповерхностного слоя образца, что позволяет получать характерное трехмерное изображение поверхности. Электронный пучок фокусируют в области диаметром всего в несколько нанометров, что

Таблица 12.2

Основные методы получения характеристик наноматериалов

Физические или химические параметры/свойства	Метод, используемый для анализа наноматериала	
	в исходном состоянии	в диспергирован- ном состоянии
Размер и морфология	ПЭМ, СЭМ, АСМ	ДСР, ОМ, СЭМ
Элементный состав	РФ, АА, ИСП–ОЭС, ИСП–МС	
Площадь поверхности	БЭТ	
Поверхностная энергия	ОГХ	ЛДЭ
Свойства поверхности	УФ/видимая, ИК-Фурье, КР	
Кристаллическая структура	ПЭМ, РД	

Примечание: АА — атомно-адсорбционная спектроскопия; АСМ — атомно-силовая микроскопия; БЭТ — метод Брунауэра–Эмметта–Теллера; ДСР — динамическое светорассеяние; ИК-Фурье — ИК-спектроскопия с преобразованием Фурье; ИСП — метод индуктивно-связанной плазмы; ЛДЭ — лазерный доплеровский электрофорез; МС — масс-спектрометрия; ОМ — оптическая микроскопия; ОЭС — оптическая эмиссионная спектроскопия; РД — дифракция рентгеновских лучей; КР — комбинационное рассеяние; РФ — рентгеновская флуоресценция; СЭМ — сканирующая электронная микроскопия; ПЭМ — просвечивающая электронная микроскопия; УФ/видимая — спектральные методы в ультрафиолетовой и видимой области.

значительно меньше длины волны видимого света. Таким образом, разрешение изображения гораздо выше, чем в получаемом при помощи световой микроскопии, но оно примерно на порядок меньше, чем в методе ПЭМ [149]. Как и ПЭМ, СЭМ тоже обычно проводят под вакуумом, однако в данном случае можно анализировать более толстые образцы [150].

Рентгеновская флуоресценция — это метод качественного и полуколичественного определения элементного состава вещества, основанный на регистрации характеристического рентгеновского излучения, испускаемого ионизованным атомом. Когда на вещество действует рентгеновское излучение, атомы переходят в ионизованное состояние (это означает, что с одной из внешних орбиталей удаляется электрон). В процессе релаксации (когда вакантное место занимает электрон с внутренней оболочки) происходит испускание фотона. Испускаемое излучение, являющееся уникальным (характеристическим) для каждого химического элемента, анализируют с помощью спектрометра. Для полуколичественного анализа прибегают к помощи компьютерных программ, позволяющих проанализировать полученный спектр по отношению к стандартным веществам. Точность результатов зависит от подобия образца и стандарта по составу и морфологии; погрешность ме-

тогда составляет около 10% [151]. Обычно этот метод позволяет детектировать элементы с порядковым номером больше 11 [152].

Метод ИСП–ОЭС применяют для количественного определения в образце известных элементов. Принцип метода заключается в том, что каждый элемент испускает излучение со специфической энергией. Образец вводят в поток аргона, где он расщепляется на атомы. Газ переносит образовавшиеся атомы в аргоновую плазму, образованную в результате индукционного разряда, и там происходит возбуждение атомов под действием высокой температуры. Спектр испускания передается на спектрофотометр, где он разделяется на отдельные составляющие и анализируется. Интенсивность излучения образца сравнивают с соответствующими данными для стандартных веществ [153]. Образец может находиться в твердом или в жидком состоянии, однако твердые образцы следует расщепить в кислоте. Данный метод позволяет анализировать большинство элементов, за исключением наиболее термостойких, для анализа которых применяют плазму с более высокой температурой, как в методе атомной адсорбции с пламенной атомизацией [154]. Метод ИСП–МС также применяют для количественного анализа элементов. В данном случае аргоновая плазма расщепляет образец на заряженные ионы, которые затем подаются на масс-спектрометр. При этом происходит разделение ионов в соответствии с отношением массы к заряду. Преимущество метода состоит в том, что никакие стандарты для его проведения не требуются; метод имеет хорошие пределы обнаружения и позволяет определять концентрацию и соотношение изотопов [155].

Комбинационное рассеяние (рамановская спектроскопия) — удобный неdestructивный метод анализа кристаллических веществ и получения структурной информации о некристаллических веществах. Падающий на образец лазерный пучок взаимодействует с испускаемыми образцом фотонами или другими частицами, в результате чего энергия лазерных фотонов увеличивается или уменьшается. Длины волн, близкие к длине волны лазерного света, отфильтровывают, а остальное излучение подается на детектор. Когда падающий на молекулу свет взаимодействует с электронным облаком этой молекулы, фотон возбуждает один из электронов, который переходит из основного состояния в промежуточное. При спонтанном рассеянии света молекула переходит из основного состояния в промежуточное возбужденное состояние, а при релаксации оказывается на колебательном уровне возбуждения, в результате чего появляется так называемое стоксово комбинационное рассеяние света. При неупругом светорассеянии определяют колебательные частоты образца, которые выражают в волновых числах, соответствующих разнице значений волновых чисел возбуждающего излучения и линии Стокса. Расчеты осуществляет компьютер и выдает их в виде значений сдвигов волновых чисел (см^{-1}) [156].

В обычной структуре графита выделяется основная полоса при 1580 см^{-1} (так называемая G-полоса). Полоса D обычно располагается между 1330 и 1360 см^{-1} , соответствует частоте продольных оптиче-

ских фононов и связана с дефектом структуры. D-полоса присутствует в спектре всех аллотропных форм углерода, включая аморфный углерод в состоянии sp^2 - и sp^3 -гибридизации. В УНТ эта полоса активирована в результате гетероатомных замен, пустот, границ и других дефектов [157]. Степень графитизации тем больше, чем меньше значение отношений интенсивности $I(D)/I(G)$.

Дифракция рентгеновских лучей — неdestructивный аналитический метод изучения упорядоченной структуры материалов, основанный на упругом рассеянии рентгеновских лучей. Структуру углерода часто пытаются исследовать с помощью этого метода, однако применение общей теории дифракции для описания структуры углерода ограничено из-за слабого рассеяния рентгеновских лучей и невысокой степени кристалличности материала. Среднее расстояние между слоями определяют по положению пика 2θ , а взаимосвязь между средним размером кристаллита L_a и шириной пика рассеяния β описывается уравнением Шеррера: $L_a = \kappa\lambda/(\beta\cos\theta)$, где κ — константа, а λ — длина волны рентгеновского излучения. L_a является усредненной величиной, поскольку она учитывает возможные вариации числа слоев и толщины каждого слоя.

Метод динамического светорассеяния применяют для определения размера частиц в растворе. Через образец пропускают пучок лазерного излучения, обычно красного (633 нм). Лазерное излучение рассеивается, а затем собирается на детекторе и направляется в фотоэлектронный умножитель и усилитель сигнала. Получают информацию о положении частицы в определенный момент времени. На основании этих данных рассчитывают гидродинамический радиус частицы по формуле Стокса–Эйнштейна. Данный метод подходит для частиц размером от 1 нм до 6 мкм. Для проведения измерений образец в виде порошка нужно диспергировать в растворителе с известной вязкостью. Концентрация раствора может колебаться от 0,1 до 40% (масс./об.). Для измерения требуется около 1,5 мл раствора, но использование специальных кювет позволяет уменьшить необходимое количество до 300 мкл [158].

Непосредственно изображение частичек в дисперсной среде получить нельзя, однако наноматериалы, образующие в растворе агрегаты, могут оставаться в агрегированном виде и после высушивания. Для получения изображения этих структур можно использовать электронные и оптические методы анализа. Хотя оптика значительно уступает по возможностям электронной микроскопии, оптическим методом можно получить общую информацию о размере крупных агрегатов. В некоторых случаях бывает полезно использовать темнопольную микроскопию, поскольку она позволяет высветить образец на темном фоне и улучшить разрешение.

Для предсказания и контроля стабильности коллоидных суспензий или эмульсий можно измерять дзета-потенциал. Дзета-потенциал — одна из основных движущих сил процесса взаимодействия частиц: частицы с высоким значением дзета-потенциала одного знака

(положительного или отрицательного) отталкиваются друг от друга. Молекулы и мельчайшие частицы, имеющие небольшую плотность (что позволяет им не выпадать в осадок), с высоким дзета-потенциалом (менее -30 мВ и более 30 мВ) являются устойчивыми. Большинство диспергированных в водных средах частиц имеют на своей поверхности заряд, что, главным образом, связано с ионизацией поверхностных групп или адсорбцией заряженных частиц. Этот поверхностный заряд приводит к перераспределению расположения окружающих ионов, так что вокруг частиц образуется некий заряженный слой, состав которого отличается от состава основного раствора. Если частица перемещается, то этот слой перемещается вместе с ней. Дзета-потенциал соответствует потенциалу в той части слоя, который перемещается вместе с частицей. Обычно эту зону называют плоскостью скольжения. Для определения дзета-потенциала к дисперсии прикладывают электрическое напряжение. Дисперсные частицы движутся к противоположно заряженному электроду, а скорость их движения пропорциональна величине дзета-потенциала. Эту скорость определяют методом лазерного доплеровского электрофореза. Подвижность частиц определяют по сдвигу частоты лазерного излучения, вызванного перемещением частиц, и на основании подвижности частиц и вязкости среды, используя теорию Смолуховского или Хюккеля, рассчитывают значение дзета-потенциала [158].

12.6.2. Определение цитотоксичности по конечной точке

После получения детальных характеристик наноматериала его можно вводить в контакт с клетками на определенное время, а затем оценивать характер и силу воздействия по конечной точке. Для определения токсичности материалов существует множество вариантов конечных точек, являющихся специфическими маркерами прямого токсического воздействия или механизмов, которые могут привести к токсическим проявлениям. Чаще всего для подобного рода исследований применяют микроскопические, биохимические и электрохимические методы анализа.

Для визуализации морфологии клеток и взаимодействия наноматериалов с клеточными системами обычно применяют световую и электронную микроскопию. Чаще всего используют такие методы оптической микроскопии, как микроскопия в светлом поле, микроскопия в темном поле, флуоресцентная и конфокальная микроскопия. Каждый метод имеет свои достоинства и недостатки (см. ниже).

Микроскопия в светлом поле позволяет грубо оценить морфологию клеток, подвергшихся воздействию наночастиц. Можно разглядеть крупные агрегаты наночастиц, однако специфических взаимодействий между клетками и наночастицами увидеть нельзя. Пример изображения, полученного этим методом, представлен на рисунке 12.7.

Микроскопия в темном поле может применяться для визуализации неокрашенных наноматериалов и клеточных мембран, которые при

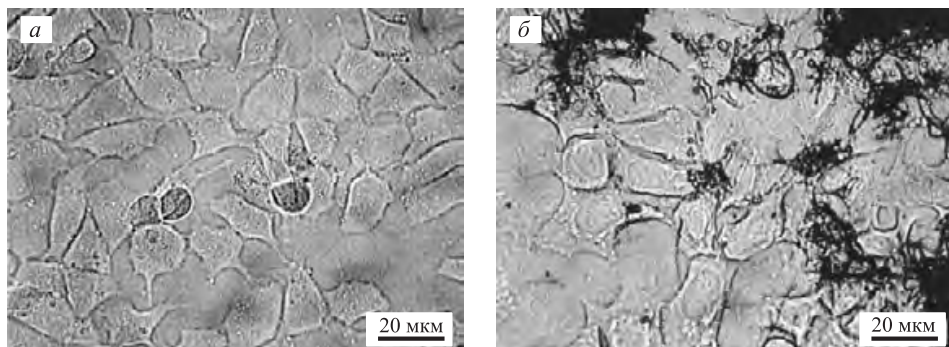


Рис. 12.7. Кератиноциты мыши после воздействия углеродных нановолокон на протяжении 24 ч: *а* — контрольные клетки; *б* — клетки, к которым добавлена суспензия углеродных нановолокон (100 мкг/мл). Изображение получено методом светлопольной микроскопии

такой технике выполнения анализа выглядят светлыми объектами на темном поле (рис. 12.8). Этот метод позволяет удалить нерассеянный свет от дифракционной картины, образующейся на нижней фокальной поверхности объектива. Если показатель преломления объекта отличается от показателя преломления среды или если существуют градиенты показателя преломления (как на краю мембраны), образец преломляет свет. Разрешающая способность объектива в методах светлого поля и темного поля одинакова, однако метод темного поля позволяет лучше контрастировать контуры, углы и границы объектов [159]. Система CytoVita™150 Ultra-Resolution Imaging (URI) (Aetos Technologies, Inc., Алабама) представляет собой приставку для обычного исследовательского светового микроскопа, которая выдает изображение в темном

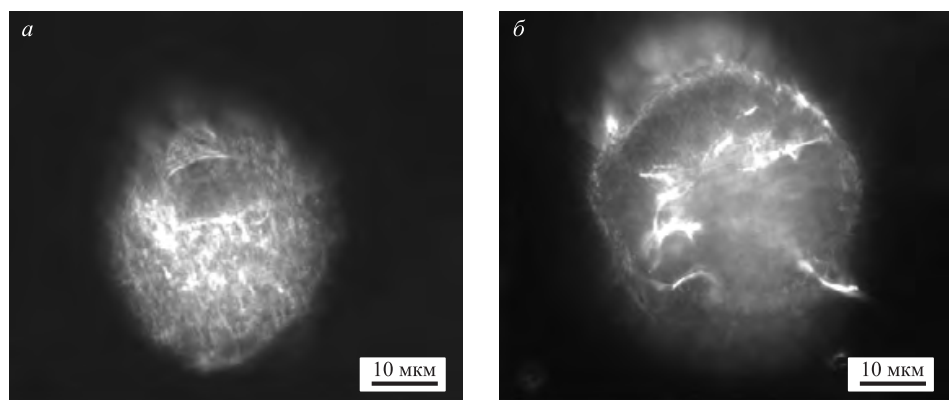


Рис. 12.8. Изображение альвеолярных макрофагов крысы, полученное с помощью приставки URI: *а* — контрольный образец; *б* — образец с углеродными нановолокнами (10 мкг/мл)

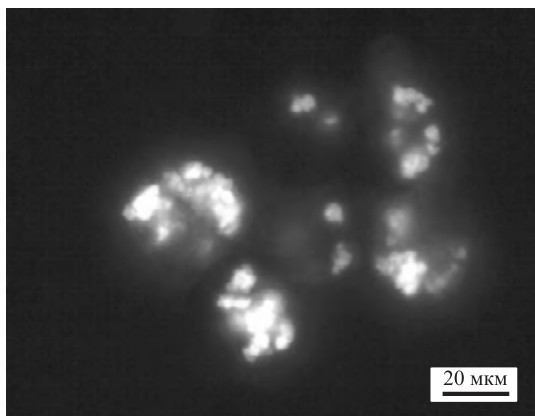


Рис. 12.9. Альвеолярные макрофаги крысы после контакта с мечеными красителем кремневыми наночастицами (10 мкг/мл); изображение получено с помощью флуоресцентной микроскопии

поле. В настоящее время URI очень широко используется в биологических исследованиях, поскольку позволяет наблюдать за живыми объектами в большом увеличении с помощью масляных линз [159, 160].

Флуоресцентную микроскопию применяют для визуализации образцов, помеченных флуоресцентными зондами. Прием окраски клеточных структур используют когда нужно изучить локализацию отдельных элементов и оценить их целостность. Метод помогает на качественном уровне изучать механизмы развития цитотоксичности, выражающиеся в изменении морфологии клетки и нарушении мембранного потенциала. Кроме того, флуоресцентная микроскопия позволяет получать изображения флуоресцентных наночастиц, таких как кремневые наночастицы (DSNP) (рис. 12.9). При флуоресцентной микроскопии свет от источника проходит через фильтр возбуждения, который пропускает только свет с определенной длиной волны. Этот свет проходит через объектив и освещает образец. Флуоресцентное излучение образца с большей длиной волны возвращается обратно, проходит через объектив, дихроичное зеркало и запирающий фильтр.

Флуоресценция в двойном режиме (DMF) в комбинации с системой URI позволяет одновременно получать изображение флуоресцентных и нефлуоресцентных структур. Так, агрегаты наночастиц или клетки можно визуализировать с помощью стандартной оптики в темном поле, а специфические клеточные структуры или меченые флуоресцентным зондом наночастицы — с помощью трехлинейных возбуждающего и запирающего фильтров. Возможности системы DMF продемонстрированы на рисунке 12.10. Обратите внимание, что на рисунке 12.10, *а* клетки флуоресцируют, а наночастицы просто освещаются, тогда как на рисунке 12.10, *б* наночастицы флуоресцируют, а клетки освещаются.

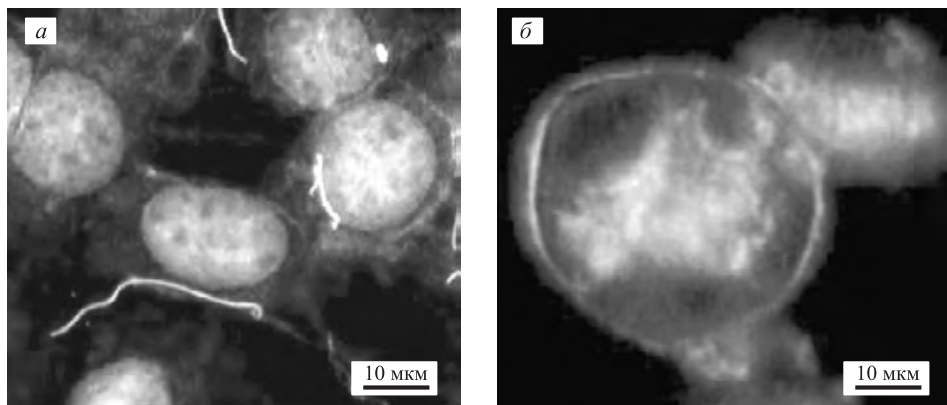


Рис. 12.10. Два варианта визуализации взаимодействия наночастиц с клетками в методе флуоресценции: *а* — кератиноциты мыши, обработанные флуорофором, который связывается с ядром и актиновыми филаментами, после взаимодействия с углеродными нановолокнами (10 мкг/мл); *б* — альвеолярные макрофаги крыс после взаимодействия с мечеными красителем кремниевыми наночастицами

Конфокальная микроскопия позволяет изучать оптические срезы изучаемых объектов. Существуют два варианта данного метода: лазерная сканирующая конфокальная микроскопия (LSCM) и конфокальная микроскопия с вращающимся диском (SDCM). Первый вариант обеспечивает высокое качество изображения, правда, при низкой скорости съемки (менее 3 кадров в секунду), тогда как второй вариант позволяет быстро получать серию изображений (со скоростью 30 кадров в секунду), но более низкого качества, что подходит для анализа динамики процессов [161].

Лазерный сканирующий конфокальный микроскоп состоит из точечной диафрагмы, сопряженной с фокальной плоскостью объектива. Такое устройство позволяет передать на детектор только сфокусированный свет и элиминировать внефокальные лучи. В большинстве конфокальных систем на детектор приходится одна точечная диафрагма [161]. В этом случае образец последовательно сканируется, а затем из полученных данных формируется общее изображение. Система SDCM действует по тому же принципу, только в ней применяется источник света, возбуждающий одновременно множество участков. Использование дуговой лампы в качестве источника возбуждающего света позволяет легко изменять длину волны возбуждающего света — за счет смены фильтра.

Проанализированные с помощью конфокального микроскопа оптические срезы позволяют получать контрастную картину с высоким разрешением по всем трем осям. Смещением фокальной плоскости можно совмещать оптические срезы для формирования трехмерного изображения (рис. 12.11). Это оптимальный метод получения трехмер-

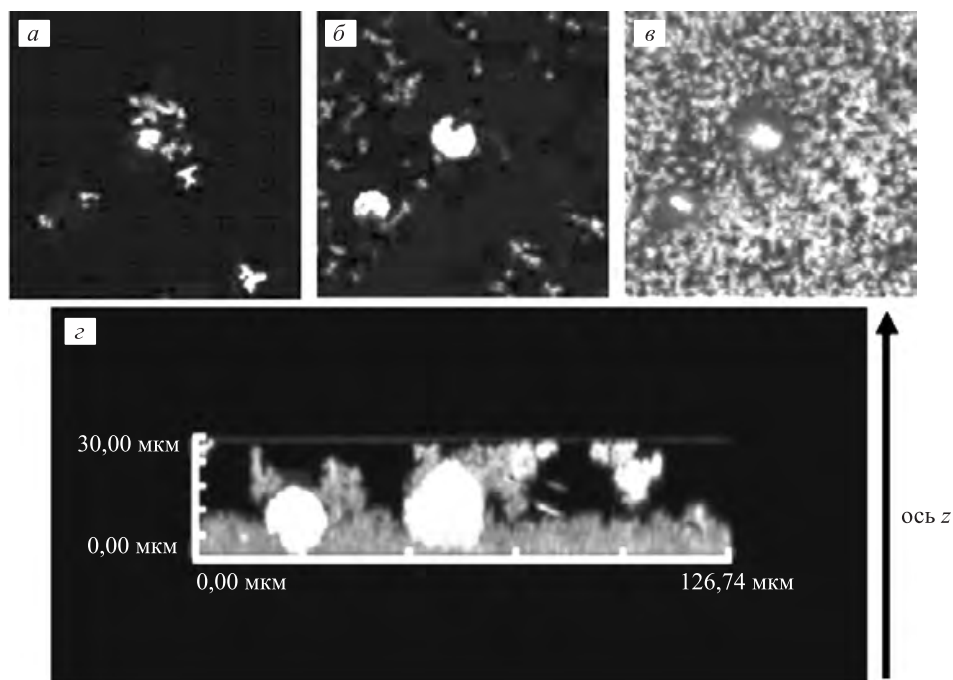


Рис. 12.11. Альвеолярные макрофаги крысы после взаимодействия с меченными красителем кремниевыми наночастицами. Изображение получено с помощью конфокального микроскопа: *a* — верхний срез в плоскости *xy*; *б* — средний срез в плоскости *xy*; *в* — нижний срез в плоскости *xy*; *г* — наложение оптических срезов, позволяющее получить изображение в плоскости *xz*

ного изображения сравнительно толстых биологических образцов, не требующий их деструкции. Недостаток метода заключается в том, что он не позволяет увидеть нелюминесцирующие объекты, поэтому традиционную конфокальную микроскопию нельзя использовать для получения изображения углеродных частиц без флуоресцентного мечения. Обычно разрешение конфокального микроскопа составляет 400–600 нм [162].

Для изучения взаимодействия биологических образцов с наночастицами можно использовать и электронный микроскоп. Электронная микроскопия характеризуется высоким разрешением и предоставляет целый ряд возможностей, например визуализацию наночастиц внутри клеточных структур. Однако во многих случаях перед проведением такого анализа требуется специальная подготовка образца. Фиксирование и высушивание изменяют морфологию клеток, что приводит к артефактам. Помимо этого, толщина образцов для ПЭМ не должна превышать 100 нм, поэтому клетки следует осаждать центрифугированием и разделять на срезы, в результате чего может произойти попада-

ние наночастиц в клеточные органеллы. Для проведения СЭМ образец подвергается меньшей обработке, однако изображение получают под вакуумом. Основным недостатком метода СЭМ для анализа биологических образцов, которые не проводят электрический ток, является то, что они должны быть заряжены. Поэтому образцы высушивают и покрывают тонкой (1–2 нм) углеродной или металлической пленкой. Альтернатива — использование СЭМ с режимом естественной среды. В этом случае можно изучать влажные образцы при пониженном давлении в атмосфере газа и водяных паров. Однако разрешение этого метода не позволяет увидеть захват наночастиц клетками, а визуализация живых клеток представляет собой довольно сложную задачу.

Итак, существует большой выбор методов для получения изображения изучаемых объектов, однако предпочтение обычно отдают тем из них, которые позволяют анализировать живые образцы. К сожалению, оптический микроскоп не дает такого разрешения, чтобы видеть частицы наноматериалов, за захватом клетками нелюминесцентных частиц также довольно трудно следить. Тем не менее иногда это удается. Например, было проведено сравнительное исследование захвата альвеолярными макрофагами частиц оксида титана, кварца и твердых частиц выхлопа дизельного двигателя. В этих опытах анализировали светорассеяние под прямым углом от контрольных и подвергшихся воздействию клеток [163]. Конечно, на основании этих данных можно сделать лишь предварительные выводы, поэтому продолжается поиск методов анализа взаимодействия наночастиц с клетками, которые не требовали бы таких строго регламентированных условий подготовки образца и обеспечивали бы большую точность определения. Пока же приходится использовать сочетание описанных выше подходов.

Для определения цитотоксичности *in vitro* обычно применяют один из многочисленных биохимических методов. Разработаны методики определения маркеров, указывающих количество мертвых клеток (анализ цитотоксичности), количество живых клеток (анализ жизнеспособности), механизмы клеточной смерти (некроз или апоптоз), а также других биомаркеров, информирующих о механизме токсичности.

Жизнеспособность клеток после воздействия потенциально токсичного вещества можно оценить по состоянию клеточного метаболизма и целостности мембраны. Обычными маркерами клеточного метаболизма являются синтез АТФ и восстановление тетразолия. Тест с тетразолием основан на том, что дегидрогеназы в живых клетках производят восстанавливающие соединения, такие как НАДН и НАДФН, и эти коферменты передают свои электроны другим переносчикам электронов, которые могут превращать тетразолий в формазан. Мертвые клетки теряют способность восстанавливать тетразолий, поэтому образование окрашенного формазана пропорционально количеству живых клеток в культуре.

Наиболее часто в качестве производного тетразолия используют бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) [164]. После воздействия токсичного вещества на клетки их инкубируют

с этой солью. В процессе инкубации в митохондриях живых клеток происходит расщепление кольца в молекуле МТТ под действием сукцинатдегидрогеназы, в результате чего появляется синяя окраска формазана. Соль формазана экстрагируют с помощью спирта и измеряют оптическую плотность этого раствора при 570 нм, вычитая оптическую плотность при 690 нм, чтобы учесть погрешность пластиковой кюветы и мутность [164]. Полученное значение сравнивают со значением для отрицательного контроля, и жизнеспособность клеток выражают как процент прироста или сокращения численности клеток по отношению к контролю. В биохимических экспериментах важно иметь и положительный, и отрицательный контроль, чтобы быть уверенным в корректности оценки. В методе с МТТ положительным контролем обычно служат клетки, подвергшиеся обработке химическим веществом или наноматериалом с известной токсичностью, а отрицательным контролем служат клетки, не подвергавшиеся такой обработке.

При использовании биохимических методов анализа для оценки токсичности наноматериалов возникает множество проблем. Наиболее серьезной проблемой является связывание красителей с поверхностью наночастиц [8]. В работе [165] обнаружено, что технический углерод мешает проведению биохимического анализа, поскольку он адсорбирует биологические маркеры. Было высказано предположение, что и другие УНТ могут неспецифическим образом адсорбировать различные органические молекулы и макромолекулы. Действительно, в экспериментах Верле-Книрша с соавторами было показано, что ОУНТ препятствуют проведению анализа с МТТ, адсорбируя формазан и приводя к ложноположительному результату оценки цитотоксичности [143]. Когда содержание примесей увеличивалось от 2,5 до 8%, адсорбция формазана сокращалась. Было показано, что ОУНТ не влияют на реакцию митохондриальных дегидрогеназ (это было проверено с помощью других методов оценки жизнеспособности клеток, основанных на этой реакции), но образующаяся в результате анализа соль формазана связывается на поверхности ОУНТ, что приводит к ложноположительному результату (было выяснено с помощью ПЭМ и сопоставлением с результатами других тестов). Однако Вик с соавторами показали, что связывание формазана с МУНТ было очень слабым [166]. Некоторые виды наночастиц связывали цитокины — сигнальные вещества, с помощью которых клетки обмениваются информацией [167]. В связи с подобными сложностями использование колориметрических биохимических тестов для оценки цитотоксичности требует доработки традиционных протоколов и постановки дополнительного контроля.

Апоптоз — это последовательность биохимических событий, приводящая к гибели клетки. Одним из индикаторов апоптоза является рассеивание митохондриального мембранного потенциала. Обычно для определения потенциала митохондриальной мембраны митохондрии окрашивают красителем, который накапливается в митохондриях здоровых клеток. Изменение потенциала митохондриальной мембраны приводит к перераспределению красителя внутри клетки и во внекле-

точном пространстве [168]. Апоптоз иногда начинается в результате окислительного стресса, который может быть следствием воздействия некоторых наноматериалов [52, 94, 101, 103]. Окислительный стресс происходит в результате нарушения баланса между повреждающими клетку окислителями и защитными антиоксидантами. К окислителям относятся пероксидные и гидроксидные радикалы, которые обобщенно называют реактивными формами кислорода (РФК). Высвобождение РФК может приводить к изменению состояния клеточной мембраны и повреждению макромолекул, что может вызвать воспалительный процесс, а также повреждение и гибель клеток [145]. Кроме того, радикалы кислорода и другие активные соединения кислорода играют важную роль в процессе старения и в развитии многих болезней человека, включая рак, рассеянный склероз, болезни Паркинсона, аутоиммунные заболевания и старческое слабоумие [169].

Обычно для оценки окислительного стресса в клетках, подвергшихся воздействию наночастиц, проводят определение РФК. В этом методе флуоресцентный зонд (2',7'-дихлоргидроксифлуоресцеина диацетат) инкубируют с клетками до того, как их введут в контакт с наночастицами, в результате чего под действием эстераз зонд восстанавливается до дихлорфлуоресцеина (ДХФ). Через определенное время после взаимодействия с наночастицами определяют интенсивность флуоресценции ДХФ, связанного с РФК, при этом фильтр возбуждения настраивают на длину волны 485 нм, а запирающий фильтр — на 530 нм. Чаще всего для оценки реакционной способности зонда в качестве положительного контроля используют пероксид водорода [170]. Вполне вероятно, что к образованию РФК могут быть причастны металлические примеси в углеродных образцах [116]. Например, примеси железа в асбесте вызывают образование РФК в клетках [171].

Биоаккумуляция железа зависит от степени окисления образца, механической нагрузки и возраста образца [169]. По-видимому, Fe(III) не может образовывать радикалы, тогда как Fe(II) катализирует восстановление пероксида водорода или кислорода с образованием РФК [88]. Кроме того, Лунд и Ауст [172] обнаружили взаимосвязь между мобилизованным железом и одноцепочечными разрывами в ДНК. Таким образом, токсичность конкретного материала, содержащего примеси железа, можно предсказать на основании тщательного анализа содержания железа, а именно, его степени окисления и биодоступности на поверхности материала.

Железо в составе УНТ представляет собой смесь α -Fe (нульвалентное), γ -Fe и карбида, и, как показывают данные ПЭМ, значительная часть металла покрыта тонким слоем углерода. Вопрос заключается в том, насколько это железо доступно для восстанавливающих агентов в биологической среде и, как следствие, может участвовать в окислительно-восстановительных реакциях. Один из способов определения биодоступности железа в образце состоит в добавлении ферроцина, который связывается с мобилизованным Fe(II) (этот комплекс можно обнаружить спектрофотометрическим путем) [173].

Мобилизация железа является результатом его окисления и перехода в растворимую форму, что происходит в атмосферных условиях. Реакция между нульвалентным железом в составе наночастиц и растворенным кислородом имеет кинетические ограничения и протекает до конца приблизительно за 60 дней [61]. Начало окислительного процесса ускоряет переход железа в раствор, что повышает биодоступность железа и его возможную токсичность. Дальнейшее окисление в конечном итоге приводит к образованию более стабильных соединений, таких как Fe_3O_4 и Fe_2O_3 , и к постепенному снижению растворимости в течение периода от 10 до 300 дней.

Хотя методы определения жизнеспособности клеток и цитотоксичности, основанные на измерении концентрации АТФ, восстановлении тетразолия и образовании РФК, являются информативными и недорогими, они имеют ограничения, связанные с длительностью проведения эксперимента, и поэтому не позволяют вести наблюдения в режиме реального времени. Время, необходимое для получения надежного сигнала, влияет на точность результатов и на возможность ошибки вследствие взаимодействия тестируемого вещества с биологическими маркерами. В этой связи недавно стали проводиться исследования, направленные на разработку метода оценки пролиферации и морфологии клеток в реальном времени.

В одном исследовании за ростом кератиноцитов человека следили в реальном времени, пользуясь программой обработки изображений и данными по степени конфлюэнции клеток и их концентрации. Этот метод позволил обойтись без прямого подсчета клеток с помощью ферментативного расщепления или биохимического анализа, которые нельзя осуществлять в непрерывном режиме [174]. Возможно, имеет смысл использовать этот подход для определения клеточного ответа на воздействие потенциально токсичных химических веществ и материалов. В другом исследовании линию человеческих опухолевых клеток эпителия легкого, нормальные эпителиальные клетки бронхов и нормальные кератиноциты подвергали воздействию наночастиц, а затем фиксировали и окрашивали. Изображения были получены с помощью цифровой аппаратуры, а с помощью специальной программы была рассчитана площадь образованных клетками колоний [108].

На сегодняшний день наиболее хорошо разработанным методом анализа пролиферации клеток в культуре является импедансный метод (измерение полного сопротивления). Электрические свойства биологических тканей и клеток сильно зависят от их структуры. При увеличении числа клеток в среде сопротивление увеличивается, поскольку клетки выполняют функцию изоляторов и препятствуют прохождению электрического тока. Следовательно, определение электрохимического сопротивления можно использовать для мониторинга роста клеток на протяжении нескольких дней без нанесения при этом вреда клеткам [175].

Раньше для анализа пролиферации клеток в культуре по изменению сопротивления в режиме реального времени использовали гре-

бенчатые электроды. Этот метод позволял определять влияние состава среды и токсическое воздействие таких элементов, как кадмий [175]. После того как была обнаружена зависимость между электрической емкостью и содержанием ДНК в эукариотической клетке, данный метод стали применять для детекции изменений внутриклеточной ДНК при опухолевых заболеваниях; результаты соответствовали оценкам, полученным методом проточной цитометрии, для которой требуется гораздо более сложная подготовка образца [176].

С помощью метода импеданса было показано, что обработка клеток гепатокарциномы человека цитотоксическими агентами приводила к снижению сопротивления, указывая на отделение мертвых клеток. С помощью кривой роста клеток и зависимости сопротивления от концентрации клеток можно определять количество живых и мертвых клеток [177].

В недавнем исследовании метод импеданса применялся для мониторинга адгезии иммортализованных фибробластов мыши, культивируемых непосредственно на электродах. Его также успешно использовали для анализа цитотоксичности после обработки клеток модельным токсичным веществом в разных концентрациях [178]. Аналогичный метод применяли для количественного мониторинга взаимодействия фибробластов с белками внеклеточного матрикса [179].

Методы мониторинга пролиферации и адгезии клеток в реальном времени показали хорошие результаты для анализа токсичности *in vitro*. Хотя биохимические методы анализа пока используются гораздо шире, они иногда дают ошибочные результаты, что связано с адсорбцией красителей на наноматериалах и помехами при оптических и флуоресцентных методах определения. Кроме того, биохимические методы применимы только к анализу по конечной точке. В связи с этим в дальнейшем следует развивать методы на основе измерения сопротивления и другие методы анализа в реальном времени, что ускорит получение оценок состояния клеток после воздействия наноматериалов. Другой подход к решению проблемы состоит в создании предсказательных моделей, которые позволили бы ограничить количество измерений, необходимых для оценки токсичности новых материалов.

12.7. Углеродные наноматериалы

12.7.1. Роль размера частиц в токсическом действии

Ширящееся разнообразие свойств наноматериалов вынуждает уметь достоверно предсказывать их токсичность. Чтобы выработать адекватную модель для такой оценки, необходимо собрать воедино всю информацию об специфических физико-химических свойствах наноматериалов, которые определяют их токсичность, а именно — о форме, размерах и свойствах поверхности частиц [9]. Наше исследование было посвящено изучению влияния размера частиц разных графитных материалов. Поскольку кожа является элементом первой линии защи-

ты и одновременно предоставляет большую поверхность для контакта, токсичность материалов в условиях *in vitro* оценивали по их влиянию на клетки кожи [180].

В исследовании было проанализировано влияние четырех материалов: углеродных волокон (УВ), углеродных нановолокон (УНВ), многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ) и одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ). В каждом из этих материалов графитовая структура имеет свои особенности, что приводит к десятикратному различию в размере частиц.

Структуру и диаметр частиц каждого материала определяли методом ПЭМ. Средний диаметр каждой частицы УВ, УНВ, МУНТ и ОУНТ составлял 10 мкм, 100 нм, 10 нм и 1 нм соответственно, однако ОУНТ образовывали волокна диаметром от 20 до 50 нм и длиной до нескольких микрометров.

По данным рентгеновской дифракции, в спектре УВ для межслоевого расстояния d_{002} при угле дифракции 25 градусов имеется пик, который является типичным для турбостратной структуры углерода. При 112 сигнал отсутствует, и это говорит о том, что все образцы имеют двумерную упорядоченную структуру (рис. 12.12).

Результаты анализа спектров комбинационного рассеяния представлены в таблице 12.3. Как отношение $I(G)/I(D)$, так и размер кристаллитов оказались больше для МУНТ, чем для ОУНТ.

Данные СЭМ показывают, что частицы и агрегаты УНВ, МУНТ и УНТ очень сильно различаются по структуре. В культуральной среде концы одних УНВ взаимодействовали с другими. По-видимому, это не влияло на доступность поверхности этих частиц для клеток, но могло

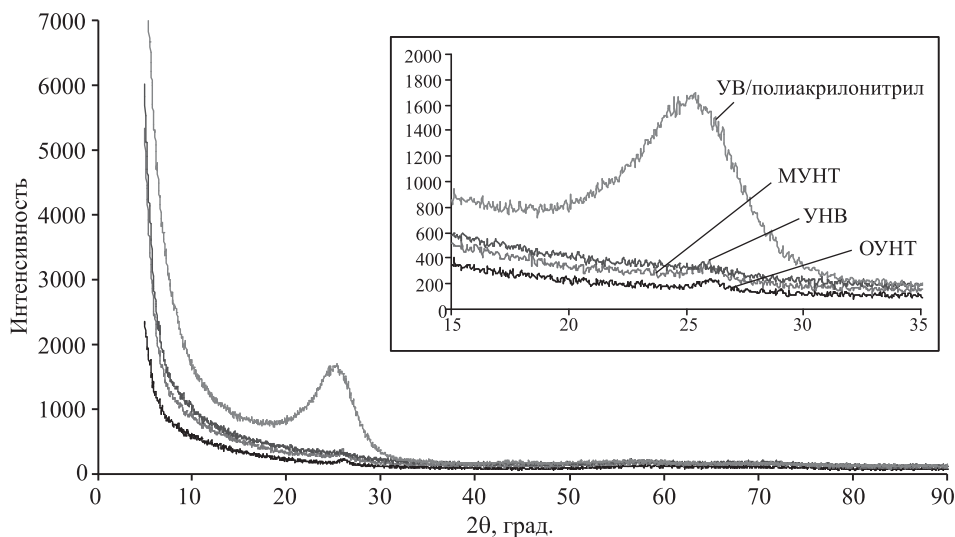


Рис. 12.12. Результаты рентгеновской дифракции углеродного волокна, углеродного нановолокна, МУНТ и ОУНТ

Таблица 12.3

**Результаты анализа спектров комбинационного рассеяния
углеродных нанотрубок**

Образец	$I(G)/I(D)$	L_a , нм
МУНТ	2,170	9,2
ОУНТ	1,159	5,0

изменить их общий размер и, следовательно, их способность проникать в клетки. Агрегаты МУНТ взаимодействовали с солями и белками, содержащимися в культуральной среде. При анализе токсичности материалов часто возникает проблема разброса данных, поскольку в растворе свойства материалов могут очень сильно изменяться. Иногда для улучшения дисперсии применяют поверхностно-активные вещества, однако в таком случае экспериментальная система перестает соответствовать условиям в реальной системе, в которую могут попадать наноматериалы. При контакте с живым организмом наноматериалы немедленно подвергаются воздействию биологических жидкостей, особенно в тех случаях, когда они попадают в легкие. По этой причине мы сочли, что образование агрегатов УНВ и УНТ в культуральной среде является отражением реальной ситуации, возникающей при попадании наночастиц в организм.

По данным рентгеновской флуоресценции, в наночастицах присутствовали исключительно примеси железа, содержание которых в каждом образце определяли методом ИСП–ОЭС. Результаты представлены в таблице 12.4.

Исследование мобилизации железа подтвердило тенденцию, отраженную в этой таблице. Содержание железа в МУНТ в пять раз превысило содержание железа в контроле (культуральной среде), в ОУНТ — в три раза, а в наночастицах оксида железа уровень контроля был превышен в девять раз (рис. 12.13). Было определено количество железа (Fe(II)), солюбилизированного из образца МУНТ: оно составило 0,16 мг/л и не изменилось на протяжении 72 ч (рис. 12.13 и 12.14). Звездочками указаны значения, существенно отличающиеся от контроля, полученные обработкой статистических данных.

Таблица 12.4

Содержание примесей в образцах

Образец	Концентрация Fe, %
УВ	0
УНВ	0,25
МУНТ	3,75
ОУНТ	1,13

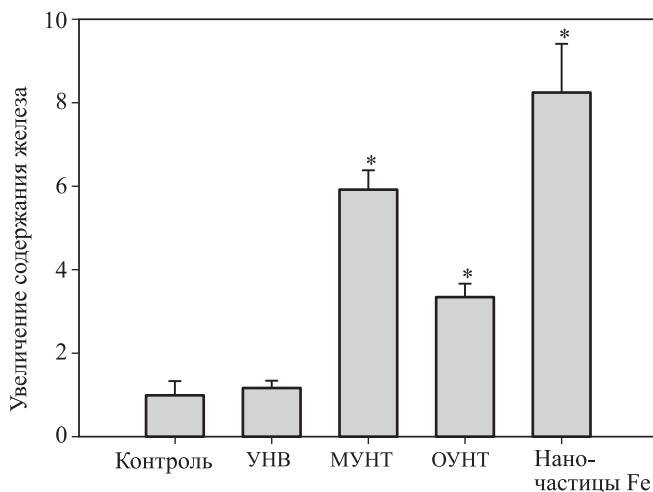


Рис. 12.13. Мобилизация железа из культуральной среды углеродными нановолокнами (УНВ), многостенными углеродными нанотрубками (МУНТ), одностенными углеродными нанотрубками (ОУНТ) и наночастицами оксида железа, суспендированными в культуральной среде в концентрации 0,1 мг/мл

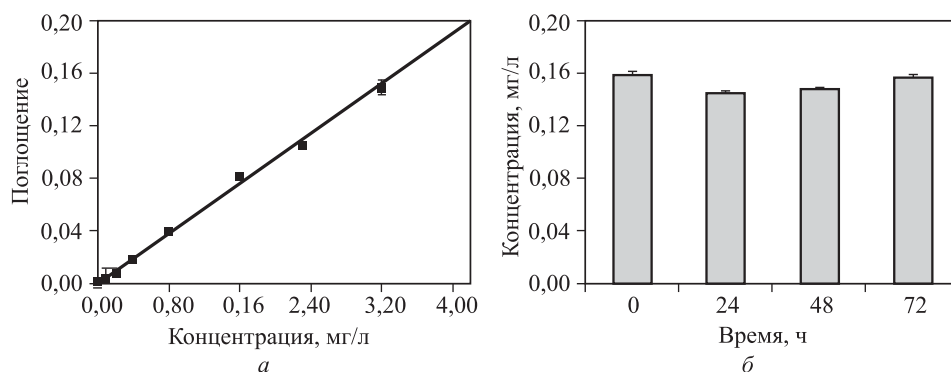


Рис. 12.14. Количественное определение мобилизации железа: *а* — калибровочная кривая; *б* — общая концентрация ионов железа в дисперсии многостенных углеродных нанотрубок (0,1 мг/мл)

Дзета-потенциал на поверхности частиц каждого вида определяли при pH 7,0. Наибольший отрицательный потенциал имели УНВ (табл. 12.5).

Конфлюэнтность и общую морфологию клеток HEL-30 изучали с помощью микроскопии в светлом поле с малым увеличением и в темном поле с помощью системы URI — с большим увеличением (рис. 12.15). Была обнаружена тенденция роста клеток вдоль углеродных волокон.

Таблица 12.5

Дзета-потенциал углеродных наночастиц

Образец	Дзета-потенциал, мВ
УНВ	−42,7
МУНТ	−39,0
ОУНТ	−26,6

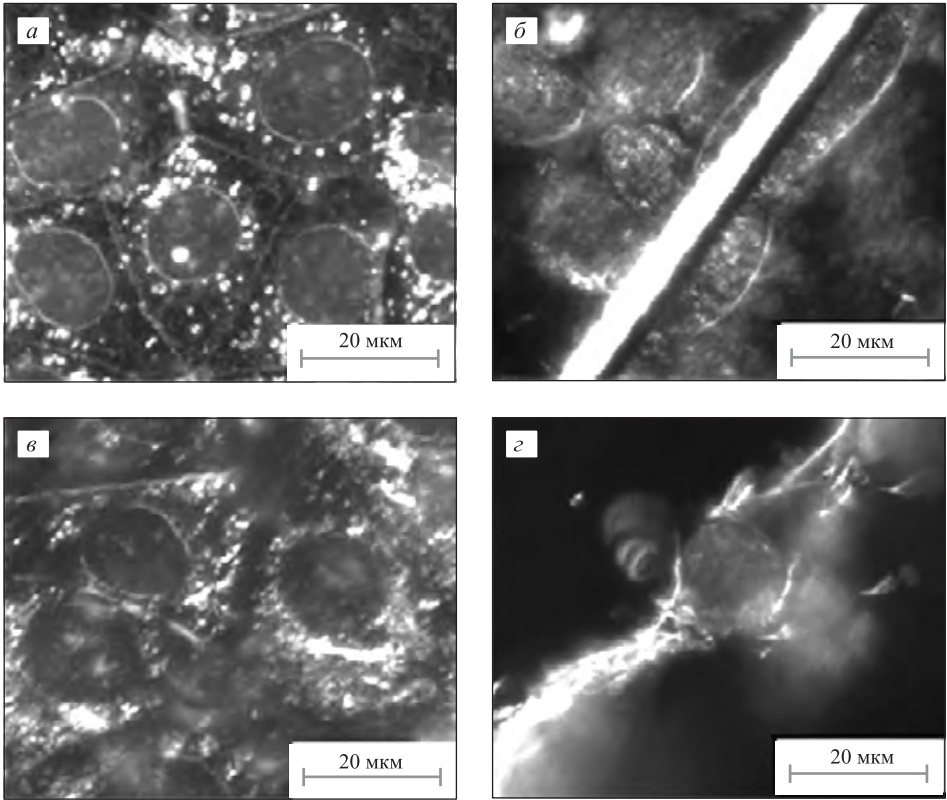


Рис. 12.15. Изучение морфологии клеток с помощью системы URI: *а* — контроль; *б* — углеродные волокна, 10 мкг/мл; *в* — углеродные нановолокна, 10 мкг/мл; *з* — одностенные углеродные нанотрубки, 10 мкг/мл

Клетки, подвергшиеся воздействию УНВ, не имели никаких морфологических отличий от контрольных клеток. На изображении одной отдельной клетки были обнаружены пучки ОУНТ, выстроившиеся вдоль клеточной мембраны. В клетках, подвергшихся воздействию МУНТ и ОУНТ, изменялась морфология и свойства мембраны. Мембранные взаимодействия клеток в большей степени усиливались после воздей-

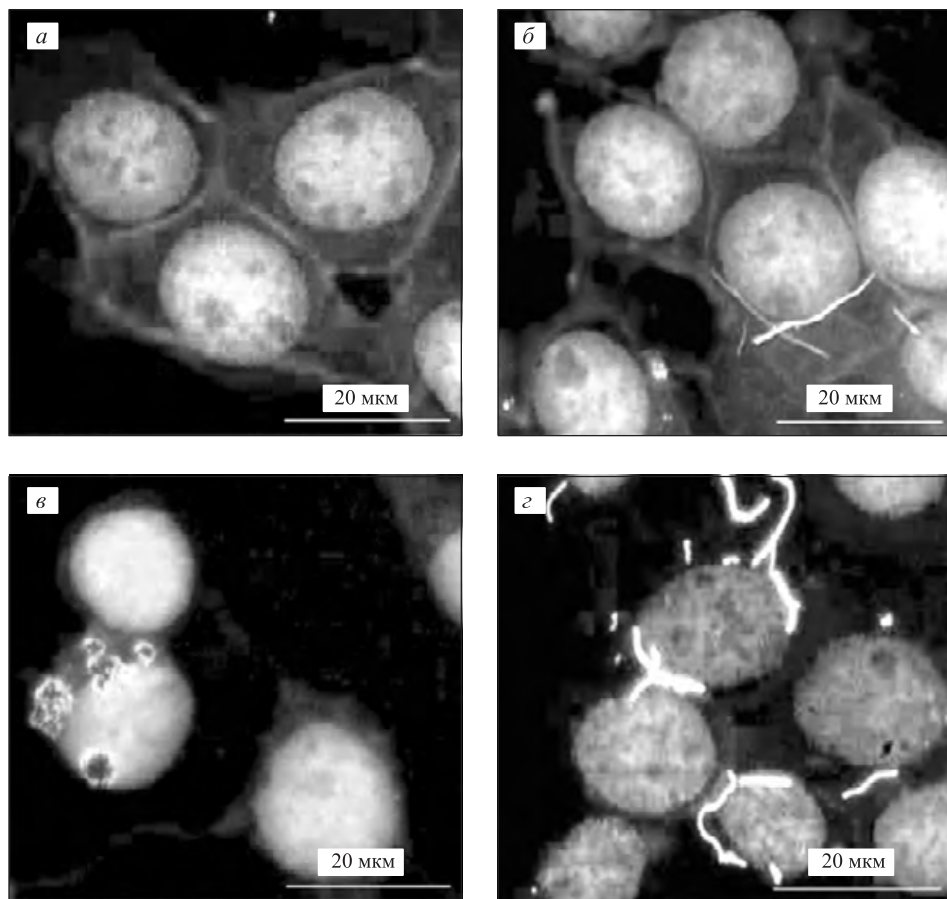


Рис. 12.16. Изучение морфологии клеток с помощью системы URI, сопряженной с модулем флуоресценции в двойном режиме: *а* — контроль; *б* — к клеткам добавлены углеродные нановолокна в концентрации 10 мкг/мл; *в* — многостенные углеродные нанотрубки, 10 мкг/мл; *г* — одностенные углеродные нанотрубки, 10 мкг/мл

ствия ОУНТ, чем МУНТ, что связано с большей площадью поверхности пучков ОУНТ по сравнению с агрегатами МУНТ (рис. 12.16).

Биохимический анализ с МТТ позволил оценить жизнеспособность клеток, подвергнутых воздействию каждого из четырех материалов в четырех концентрациях (5, 10, 25 и 50 мкг/мл) и на протяжении четырех отрезков времени (12, 24, 48 и 72 ч). За 24 ч УВ и УНВ не оказывали существенного токсического действия, однако МУНТ и ОУНТ оказались токсичными (рис. 12.17, *а*). Через 72 ч никакой из наноматериалов и ни в одной из концентраций уже не оказывал токсического действия (рис. 12.17, *б*). До 48 ч МУНТ и ОУНТ были токсичными во всех концентрациях, но затем клетки полностью восстанавливались (рис. 12.17 и 12.18).

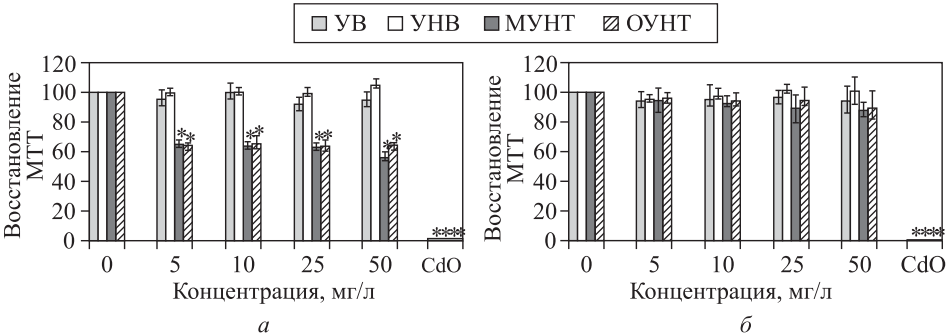


Рис. 12.17. Жизнеспособность клеток, определенная с помощью анализа с МТТ, после воздействия углеродных материалов в четырех концентрациях (5, 10, 25 и 50 мкг/мл): *а* — после 24 ч воздействия; *б* — после 72 ч воздействия

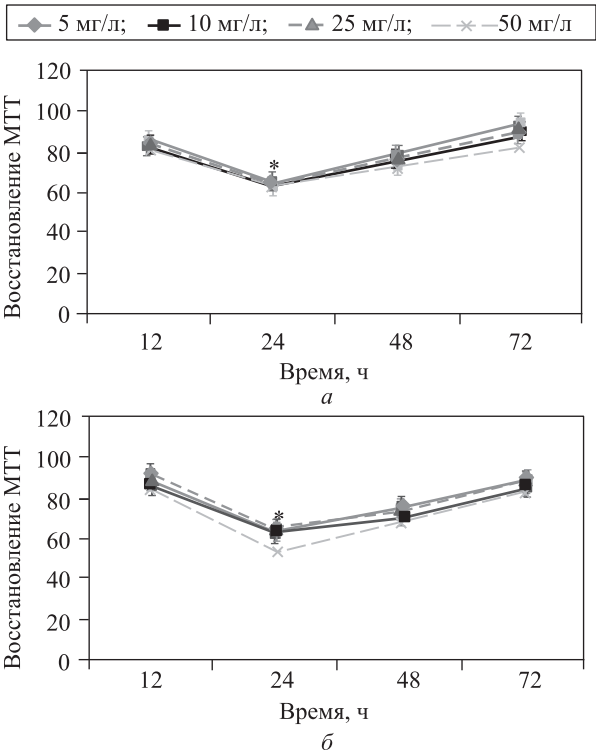


Рис. 12.18. Жизнеспособность клеток, определенная с помощью анализа с МТТ, после воздействия углеродных материалов в четырех концентрациях (5, 10, 25 и 50 мкг/мл) на протяжении четырех отрезков времени (12, 24, 48 и 72 ч): *а* — многостенные углеродные нанотрубки; *б* — одностенные углеродные нанотрубки

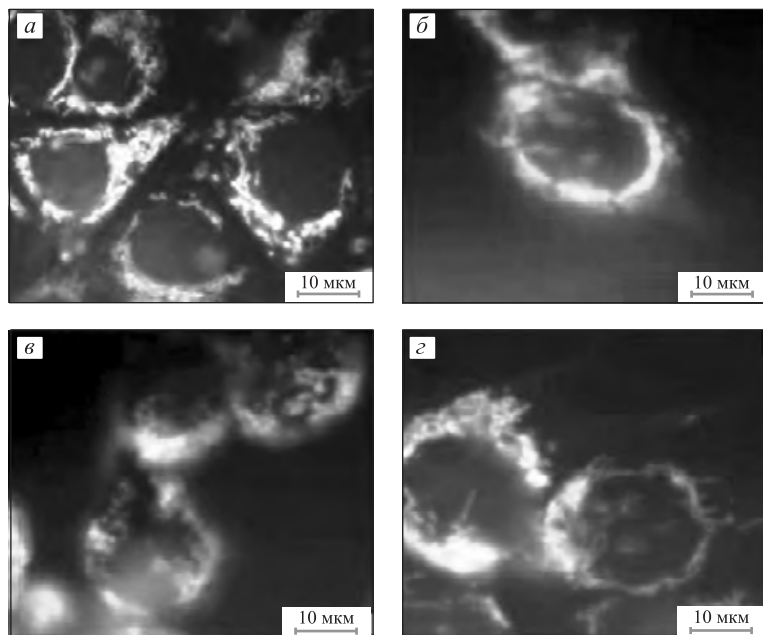


Рис. 12.19. Потенциал митохондриальной мембраны после 24 ч контакта с углеродными наноматериалами; изображения получены методом флуоресцентной микроскопии: *а* — контроль; *б* — CdO, 2,5 мкг/мл; *в* — одностенные нанотрубки, 50 мкг/мл; *з* — многостенные нанотрубки, 50 мкг/мл

В клетках из отрицательного контроля (рис. 12.19, *а*) потенциал митохондриальной мембраны не изменился, тогда как в клетках из положительного контроля (рис. 12.19, *б*) видны дивертикулы с ярким флуоресцентным сигналом, что говорит о выходе красителя из митохондрий. Впрочем, морфологические изменения в клетках не позволяют определить степень влияния наноматериала на потенциал митохондриальной мембраны. По-видимому, митохондрии клеток, подвергшихся воздействию МУНТ и ОУНТ, начинали в какой-то степени пропускать краситель, но нельзя сказать с уверенностью, было ли это следствием апоптоза или нет (рис. 12.19, *в* и *з*).

Оценку окислительного стресса в клетках после воздействия каждого из четырех материалов в трех концентрациях (5, 10 и 25 мкг/мл) давали по уровню содержания реактивных форм кислорода через 24 ч инкубации. Присутствие УВ и УНВ слабо влияло на уровень РФК. ОУНТ повышали уровень РФК в 3–4 раза, а МУНТ — в 3–7 раз в зависимости от концентрации. ОУНТ и МУНТ повышали уровень РФК сильнее, чем пероксид водорода, который служил положительным контролем (рис. 12.20, *а*). Анализ содержания РФК в бесклеточной системе показал отсутствие взаимодействия между углеродными наноматериалами и флуоресцентным зондом, которое могло бы дать ложноположительный результат (рис. 12.20, *б*).

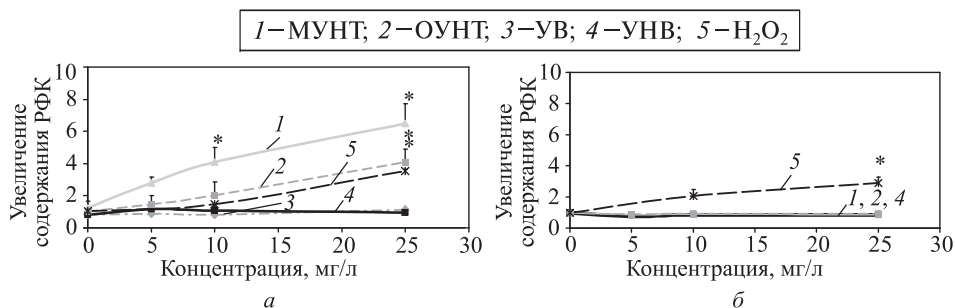


Рис. 12.20. Образование РФК за 24 ч инкубации углеродных волокон, углеродных нановолокон, одностенных углеродных нанотрубок, многостенных углеродных нанотрубок или пероксида водорода с клетками (а) или в бесклеточной системе (б)

Ранее Джиа с соавторами сообщали, что степень цитотоксичности УНТ в пересчете на массу вещества изменяется в следующем порядке: ОУНТ > МУНТ > кварц > С60 [109]. Оценивая роль размеров частиц, мы пришли к выводу, что через 24 ч инкубации МУНТ и ОУНТ оказывали более сильное цитотоксическое действие, чем УВ и УНВ. Однако мы не обнаружили различия в токсичности ОУНТ и МУНТ. Следовательно, размеры частиц могут в какой-то степени сказываться на токсичности веществ, но когда эти размеры ниже какого-то порогового значения, определяющая роль принадлежит другим факторам.

В настоящий момент мы не можем дать окончательного объяснения того обстоятельства, что за период времени от 48 до 72 ч инкубации с МУНТ и ОУНТ жизнеспособность клеток возрастала. Возможно, дело в том, что УНТ нарушили метаболизм не всех клеток в системе. Мы не знаем, проникали ли наночастицы внутрь клеток, но совершенно определенно можем говорить о наличии значительного взаимодействия между ОУНТ и клеточными мембранами [180]. Это взаимодействие могло приводить к раздражению клеток, которые начинали вырабатывать защитные белки, в результате чего клеточные мембраны становились непроницаемыми [165, 181]. Кроме того, поврежденные в начальный момент белки могли быть репарированы [182, 183]. Также возможно, что большая поверхностная энергия нанотрубок изменяет свойства среды, снижая скорость пролиферации клеток в первые 48 ч, но после определенного времени деление клеток возобновляется в полном объеме [181]. Кроме того, была высказана гипотеза, что клетки, устойчивые к действию наночастиц, продуцируют факторы роста, чтобы помочь пролиферации соседних клеток, или используют для пролиферации энергию нанотрубок [184]. Если нанотрубки проникают в клетки, возможно, ферменты дают клеткам сигнал исключить их из важнейших органов и заключить в вакуоли [165, 182], что позволяет клеткам восстановить свою способность к пролиферации после того, как наночастицы удаляются из среды. В предыдущих исследованиях было показано,

что УНТ проникают в клетки. В частности, накопление МУНТ в цитоплазме и в вакуолях кератиноцитов кожи человека зависело от времени и концентрации [116], а УНВ с диаметром от 60 до 100 нм проникали в остеобласты и заключались в вакуоли [107].

Морфология клеток, находившихся вблизи углеродных волокон, заметно изменялась, однако, по данным теста с МТТ, это не влияло на жизнеспособность клеток. УНВ оказывали минимальное токсическое действие при любой длительности экспозиции, и морфология клеток под их влиянием не изменялась. Через 24 ч МУНТ и ОУНТ оказывали на клетки HEL-30 заметное токсическое воздействие, и морфология клеток очень сильно изменялась. Таким образом, даже если изменение морфологии клетки не всегда говорит о токсическом воздействии, оно все же может играть определенную роль в токсическом действии УНТ. Хотя МУНТ и ОУНТ образовывали в среде роста агрегаты с совершенно различной структурой, оба вида наночастиц приводили к одинаковому по сути снижению жизнеспособности клеток и изменению морфологии, что, возможно, связано с близким значением площади поверхности этих структур. Вик с соавторами обнаружили, что нанотрубки с одинаковым содержанием примесей, но различной структурой агрегатов оказывали разное токсическое действие на клетки: пучки УНТ были менее токсичными, чем кластеры УНТ [166]. В соответствии с нашими данными МУНТ и ОУНТ, действительно, формировали агрегаты с разной структурой, но их токсический эффект был одинаковым. Сходство токсического действия МУНТ и ОУНТ, возможно, объясняется их одинаковой способностью связываться с клеточными мембранами, нарушать морфологию клеток и препятствовать их пролиферации.

Ранее было показано, что для сравнения токсичности наноматериалов можно использовать уровень содержания РФК [185]. Нел с соавторами обнаружили, что обработка кератиноцитов и клеток эпителия бронхов высокими дозами ОУНТ приводила к образованию РФК и окислительному стрессу [52]. Мы также показали, что при обработке клеток HEL-30 наноматериалами ОУНТ и МУНТ происходит образование РФК, но этого не наблюдается при обработке клеток УНВ и УВ. Кроме того, содержание РФК увеличивалось при росте концентрации МУНТ и ОУНТ, что указывает на дозовую зависимость этого эффекта. Увеличение содержания РФК после воздействия МУНТ и ОУНТ соответствует данным о мобилизации железа и концентрации железа, рассчитанной с помощью метода ИСП–ОЭС. По нашим данным, содержание железа в МУНТ вдвое превосходило его содержание в ОУНТ, а результаты измерения РФК показали трехкратное увеличение окислительного стресса, что, возможно, говорит об участии железа в механизме развития окислительного стресса.

Таким образом, результаты исследований показывают, что при оценке цитотоксичности углеродных наноматериалов необходимо учитывать многие физико-химические параметры. Нельзя сконцентрироваться исключительно на размере, поверхностных свойствах или геометрии наночастиц и не учитывать их поведение в растворе и содержание

в них примесей. При оценке возможной токсичности наноматериала необходимо принимать во внимание еще и тот факт, что при уменьшении размеров частиц возрастает удельная площадь поверхности и поверхностная энергия этих частиц.

12.7.2. Роль примесей и площади поверхности частиц в токсическом действии

Присутствие примесей металлов играет важную роль в токсическом воздействии УНТ. В частности, в наших работах была найдена корреляция концентрации примеси металла с уровнем окислительного стресса в клетках, отражавшегося на содержании РФК. Однако жизнеспособность клеток, определенная по активности митохондрий, не коррелировала напрямую с содержанием металлических примесей, что указывало на влияние дополнительных факторов. Учитывая высказанное ранее предположение о том, что токсическое действие материалов может быть связано с высоким значением удельной площади поверхности [58, 59], мы поставили серию экспериментов для проверки влияния площади поверхности материалов на жизнеспособность клеток и окислительный стресс *in vitro*. Для этого мы использовали три вида материалов с низким содержанием примесей и высоким значением удельной площади поверхности: сажу, Nanog и CULOT. Материал CULOT представляет собой углеродные нанотрубки, практически не содержащие примесей; его получают методом дугового разряда. Сажу и Nanog также синтезировали с помощью дугового разряда, но с последующим активированием. Метод дугового разряда, который раньше применяли для синтеза фуллеренов группы C60, теперь часто используют для производства широкого спектра УНТ. В ходе этого синтеза образуется смесь продуктов (сажа, нанотрубки, фуллерены и др.), поэтому для получения чистого продукта требуется очистка от сажи и примесей металлических катализаторов. Для создания дуги используют два углеродных стержня, концы которых отстоят друг от друга приблизительно на 1 мм; стержни помещают в герметичную камеру, заполненную инертным газом под низким давлением. При создании между стержнями разности потенциалов 20 В возникает электрический ток от 50 до 100 А и происходит электрический разряд. В результате разряда углерод испаряется с поверхности одного из электродов и осаждается в виде тонкого слоя на другом электроде — это и есть CULOT. Выход УНТ при этом зависит от равномерности дуги и температуры осаждающегося вещества. Часть углерода осаждается на стенках реактора в виде сажи и фуллеренов. Для получения материала Nanog сажа подвергается активации под действием CO₂ при температуре 900 °C на протяжении 7 ч.

На следующий день после высева клеток их обрабатывали наночастицами в концентрации 25 мкг/мл. Поскольку известно, что углеродные наноматериалы взаимодействуют с нерастворимым МТТ (бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) [10, 136, 176, 177], мы использовали растворимую форму этого реагента (WST-1).

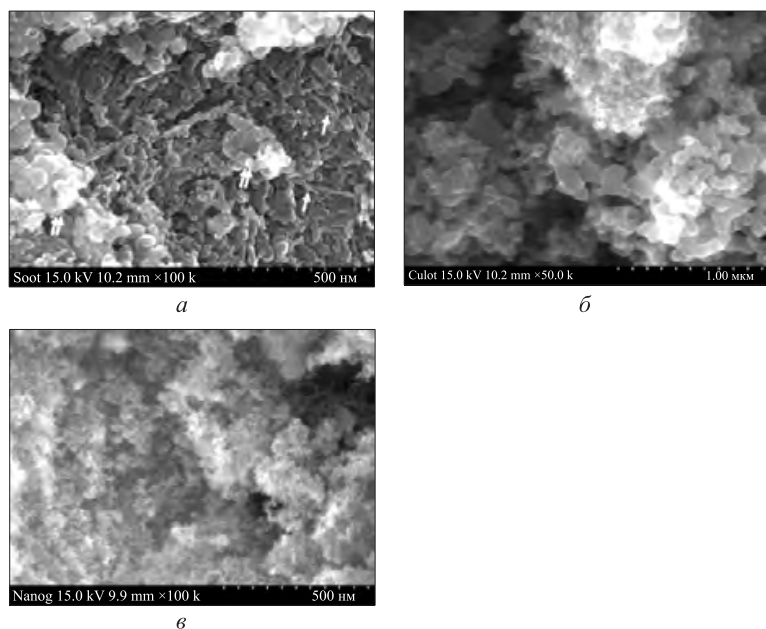


Рис. 12.21. Изображения углеродных наноматериалов, полученные методом сканирующей электронной микроскопии: *a* — CULOT; *б* — сажа; *в* — Nanog

Прежде всего был проведен контрольный эксперимент, целью которого было подтвердить соответствие условий первого и второго исследования на примере МУНТ. В дальнейшем жизнеспособность клеток определяли через 24 ч с помощью реагента WST-1. Для этого после добавления наночастиц к клеткам в среду помещали соль тетразолия и инкубировали 2 ч, на протяжении которых митохондрии здоровых клеток раскрывали цикл WST-1, восстанавливая его до растворимой в воде соли формазана. Образующийся в каждой лунке раствор переносили в лунки нового 96-луночного планшета, чтобы избежать погрешности в измерении поглощения из-за осадка наночастиц на дне лунки. Поглощение определяли при длине волны 450 нм с учетом показаний при 600 нм. В качестве положительного контроля использовали оксид кадмия (2,5 мкг/мл), отрицательным контролем служили клетки в культуральной среде. Как и при анализе с МТТ, полученные значения сравнивали с контрольными значениями и вычисляли число жизнеспособных клеток.

Материалы, полученные методом дугового разряда, характеризовали с помощью метода СЭМ (рис. 12.21). Оказалось, что CULOT содержал полиэдрические агрегаты частиц (двойные стрелки на рисунке 12.21) и очень мелкие частицы МУНТ — либо единичные, либо выстроенные в форме палочек (одинарные стрелки). Как показали результаты рентгеновского анализа (рис. 12.22), CULOT содержит определенное количество аморфного углерода, а сажа представляет собой смесь турбострат-

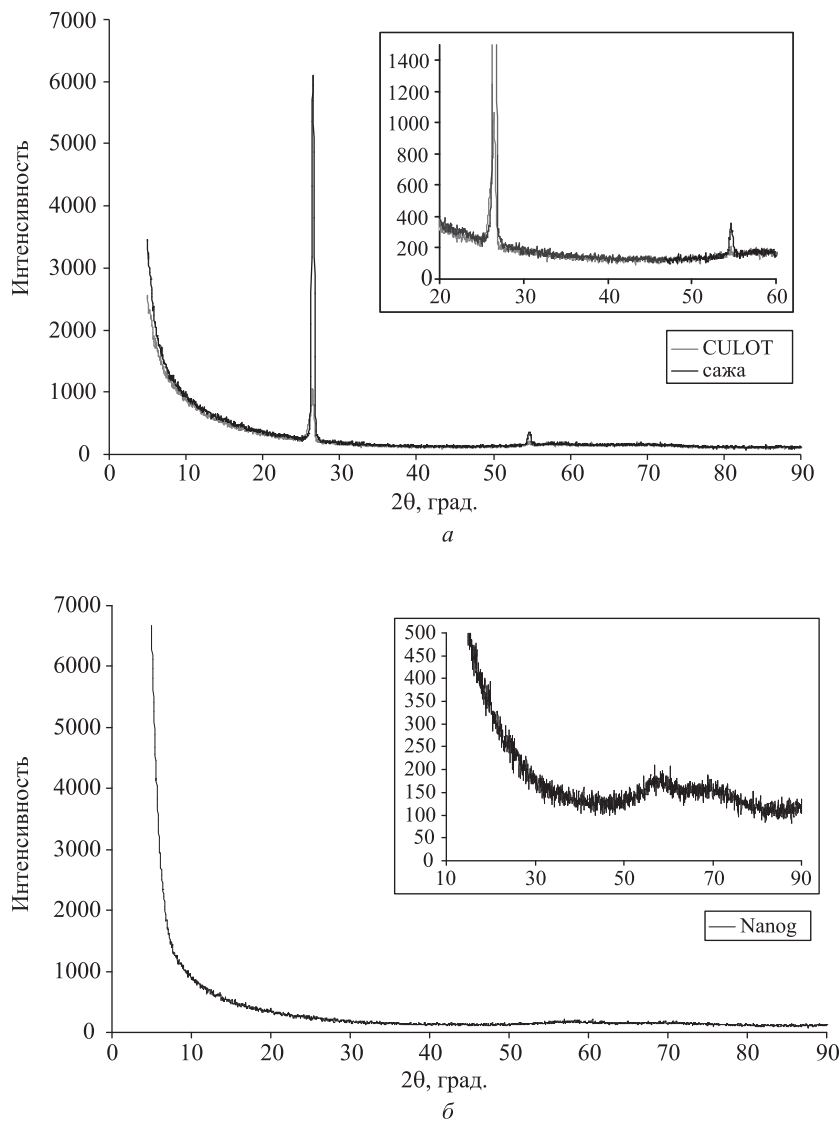


Рис. 12.22. Спектры рентгеновской дифракции: *а* — CULOT и сажа; *б* — Nanog

ного и аморфного углерода. Наличие пика при значении угла отражения $2\theta = 25^\circ$ для d_{002} является типичным признаком турбостратного углерода. Этот пик присутствует как в образце CULOT, так и в саже, но в саже он интенсивнее. Однако при 112 сигнал обнаружен не был, что свидетельствует о том, что оба материала имеют упорядоченную двумерную структуру (рис. 12.22, *а*). Из СЭМ-изображения Nanog видно, что частицы не имеют четких границ. После активирования этот мате-

Таблица 12.6

Степень графитизации, размер кристаллитов, удельная площадь поверхности (по Брунауэру, Эмметту и Теллеру), содержание примесей и дзета-потенциал для материалов CULOT, сажи и Nanog

Образец	$I(G)/I(D)$	L_a , нм	Удельная поверхность по БЭТ, м ² /г	Концентрация примеси, ppm	Дзета-потенциал, мВ
CULOT	1,134	4,9	25	120	–32,6
Сажа	0,479	2,1	125	95	–34,9
Nanog	0,436	1,9	762	115	–8,29

риал становится очень хрупким и превращается в высокодисперсный порошок (рис. 12.21, в). Метод рентгеновской дифракции не выявил в спектре образца Nanog пика, соответствующего турбостратного углероду (рис. 12.22, б).

Дальнейшее изучение образцов осуществляли с помощью метода комбинационного рассеяния (табл. 12.6). Как соотношение $I(G)/I(D)$, так и размер кристаллитов оказались выше для CULOT, чем для сажи и Nanog, что не входит в противоречие с результатами предыдущих работ.

Анализ методом ИСП показал, что CULOT и сажа содержали около 100 ppm примесей (кремний, железо и никель). Площадь поверхности образцов определяли с помощью метода БЭТ (табл. 12.6). Значение дзета-потенциала на поверхности каждого образца определяли при pH 7,0. Самый низкий дзета-потенциал оказался у материала Nanog, значения дзета-потенциалов сажи и материала CULOT были очень близкими (табл. 12.6).

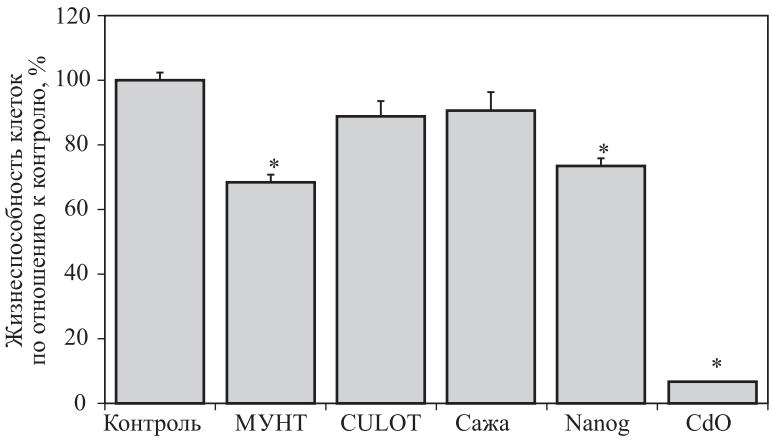


Рис. 12.23. Жизнеспособность клеток после обработки углеродными наночастицами по данным анализа с WST-1

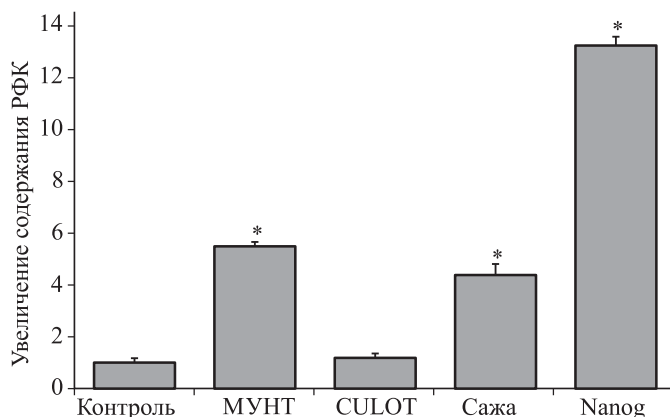


Рис. 12.24. Содержание реактивных форм кислорода после 24 ч инкубации клеток с углеродными наноматериалами

Анализ с WST-1 использовали для определения жизнеспособности клеток через 24 ч воздействия всех трех наноматериалов в концентрации 25 мкг/мл. МУНТ снижали жизнеспособность клеток примерно до 68% исходного значения, а CULOT — приблизительно на 10% (этот результат статистически был неотличим от отрицательного контроля). Среди материалов с большой удельной площадью поверхности самое сильное снижение жизнеспособности клеток вызывал Nanog; его действие было близко к действию МУНТ. Сажа незначительно снижала жизнеспособность клеток по сравнению с отрицательным контролем (рис. 12.23).

Способность материалов вызывать окислительный стресс в клетках определяли по количеству РФК через 24 ч (рис. 12.24). Все наноматериалы были взяты в концентрации 25 мкг/мл. Как было сказано выше, в присутствии МУНТ содержание РФК увеличивалось в три с лишним раза. В присутствии CULOT содержание РФК было приблизительно таким же, как в контроле, тогда как в присутствии Nanog уровень РФК через 24 ч повышался примерно в 14 раз. Это намного превышало степень окислительного стресса, вызываемого любым другим материалом. В присутствии сажи уровень стресса повышался примерно в четыре раза по сравнению с контролем.

12.7.3. Фактор токсичности

На основании проведенных исследований фактор токсичности (TF) углеродных наноматериалов в условиях *in vitro* можно выразить как функцию содержания примесей (I), величины удельной площади поверхности (SA) и значения дзета-потенциала (ZP):

$$TF = f(I, SA, ZP). \quad (12.1)$$

Принимая значение ТФ нетоксичного материала за единицу, можно получить следующее уравнение:

$$TF = \frac{1}{3} \left(\frac{I}{I_{lim}} + \frac{SA}{SA_{lim}} + \frac{ZP_{lim}}{ZP} \right), \quad (12.2)$$

где I_{lim} , SA_{lim} и ZP_{lim} — лимитирующие (критические) значения содержания примесей, удельной площади поверхности и дзета-потенциала соответственно.

Эти критические значения можно рассчитать на основании результатов анализа токсичности материалов. Например, образец УНТ не оказывал токсического воздействия на клетки, поэтому показатели для этого материала можно использовать для расчета критических значений. Тогда имеем: $I_{lim} = 2500$ ppm, $SA_{lim} = 36$ м²/г и $ZP_{lim} = -42,7$ мВ. Поскольку при более низких значениях этих параметров токсического эффекта не наблюдается, можно сформулировать следующие условия:

$$\text{если } I < I_{lim}, I = I_{lim}, \quad (12.3)$$

$$\text{если } SA < SA_{lim}, SA = SA_{lim}, \quad (12.4)$$

$$\text{если } ZP < ZP_{lim}, ZP = ZP_{lim}. \quad (12.5)$$

На основании этой модели и полученных данных были рассчитаны значения ТФ, представленные в таблицах 12.7 и 12.8.

Таблица 12.7

Оценочные значения факторов токсичности (ТФ)
углеродных наноматериалов

Образец	I/I_{lim}	SA/SA_{lim}	ZP_{lim}/ZP	ТФ
УНВ	1,0	1,0	1,0	1,0
МУНТ	15,0	8,3	1,1	8,1
ОУНТ ^а	4,5	8,9	1,6	5,0
CULOT ^б	1,0	1,0	1,3	1,1
Сажа	1,0	3,5	1,2	1,9
Nanog	1,0	21,2	5,2	9,1

^а Смесь ОУНТ и МУНТ

^б Чистый материал МУНТ

Таблица 12.8

Сравнение факторов токсичности (TF) и содержания реактивных форм кислорода (РФК) после 24 ч инкубации клеток с углеродными наноматериалами в концентрации 25 мкг/мл

Образец	TF	РФК
CULOT ^a	2,4	1,2
Сажа	2,8	4,4
Nanog	10,3	13,2
УНВ	1,0	1,1
МУНТ	8,1	6,5
ОУНТ ^б	5,0	4,0

^a Чистый препарат МУНТ

^б Смесь ОУНТ и МУНТ

При расчетах были сделаны допущения, что дзета-потенциал имеет отрицательное значение, и что все три фактора вносят одинаковый вклад в токсическое действие материала.

Фактор токсичности может использоваться для предсказания токсичности любого материала. Он практически линейно коррелирует с уровнем окислительного стресса, хотя и не коррелирует с данными по жизнеспособности клеток. Таким образом, фактор токсичности лучше воспринимать как оценку способности материала вызывать окислительный стресс, который может играть серьезную роль при длительном контакте с этими материалами. Возможно, этот параметр позволит минимизировать объем исследований, необходимых для оценки токсического действия углеродных наноматериалов.

В предыдущих исследованиях было показано, что образование РФК связано с выходом металлических примесей в раствор, так что, вероятно, для более точного расчета TF следует пользоваться значениями I, а не данными, полученными методом ИСП. Можно записать следующее уравнение:

$$\text{РФК, расчет} = \left(a \frac{I}{I_{\text{lim}}} + b \frac{SA}{SA_{\text{lim}}} + c \frac{ZP_{\text{lim}}}{ZP} \right), \quad (12.6)$$

где a , b и c — это константы со значениями 0,1; 0,5 и 0,4 соответственно. Эти значения получены при максимальном приближении расчетных и экспериментальных значений РФК. Для наглядности адекватности модели был построен график зависимости расчетных значений РФК от экспериментальных значений РФК (рис. 12.25), из которого видно, что тангенс угла наклона прямой равен единице.

Эта модель предсказывает низкое значение РФК для сажи, вероятно, из-за малого размера частиц и возможности их включения в клетки в большем объеме, чем в случае материалов, содержащих частицы

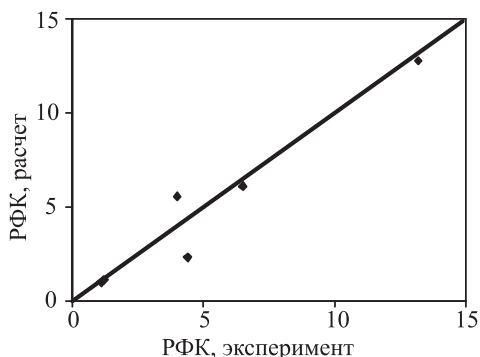


Рис. 12.25. Соотношение расчетных и экспериментальных значений РФК

с большим аспектным отношением. Для ОУНТ модель предсказывает высокое значение РФК, что может быть связано с наличием примеси железа, но без учета того, что на клетки может действовать лишь часть железа от общего содержания.

12.8. Заключение

Безусловно, нанотехнологии открывают широчайшие возможности для развития науки и технического прогресса, однако ученые должны научиться предсказывать неизвестные пока последствия от контакта биологических систем с наноматериалами. Необходимо выработать тестовые процедуры для обеспечения безопасности производства и использования наноматериалов. Поскольку наноматериалы могут очень сильно различаться по размеру, форме, поверхностным свойствам и кристаллической структуре частиц, поэтому нельзя сформулировать общие правила, обеспечивающие безопасность обращения с любыми наноматериалами. Нужна детальная характеристика и оценка опасности всех свойств, что достигается с помощью анализа токсичности каждого материала. Создание методов предсказания токсичности материалов может облегчить оценку их опасности.

В данной главе обсуждались методы определения характеристик материалов и оценки их токсичности по конечным точкам. Были отмечены новые оптические методы, позволяющие наблюдать за взаимодействием наноматериалов с клетками. Одним из наиболее многообещающих методов является флуоресценция в двойном режиме в сочетании с микроскопией в темном поле, которые позволяют визуализировать клеточные мембраны и агрегаты наноматериалов. Были рассмотрены традиционные методы оценки токсичности наноматериалов и перечислены проблемы, возникающие при использовании этих методов, а также подходы к усовершенствованию методов анализа (получение цифровых изображений, применение электрохимических методов и т. п.), разработка которых позволит получать и обрабатывать значительно более массивные наборы данных.

После обзора современных методов получения характеристик и оценки токсичности наноматериалов было исследовано влияние размеров и геометрии углеродных наноматериалов на токсичность по отношению к линии эпителиальных клеток. Были проанализированы разные наноматериалы, содержащие частицы с большим аспектным отношением, такие как УВ, УНВ, МУНТ и ОУНТ. УНВ, МУНТ и ОУНТ получали с помощью химического осаждения газов в присутствии катализатора, поэтому они содержали примеси железа. УВ и УНВ не влияли на жизнеспособность клеток и не вызывали окислительный стресс. Однако оба вида нанотрубок оказывали на клетки серьезное воздействие. Агрегаты МУНТ и пучки ОУНТ взаимодействовали с клеточной мембраной и вызывали примерно одинаковое снижение жизнеспособности клеток. Здесь определенную роль играет структура поверхности материала, поскольку УНВ, имеющие примерно такие же размеры, как пучки ОУНТ, не оказывали цитотоксического влияния. Возможно, сказывается сочетание высокого отрицательного значения дзета-потенциала УНВ и отрицательного заряда поверхности клеточной мембраны. Повышение уровня РФК при обработке клеток ОУНТ или МУНТ было тем значительнее, чем больше примесей железа содержалось в этих материалах. Выводом из этой части исследований было то, что токсичность углеродных наноматериалов зависит от их размеров, содержания примесей и свойств поверхности.

Следующим этапом работы было изучение параметров, влияющих на токсичность наноматериалов, на примере трех материалов с низким содержанием примесей. Эти материалы были синтезированы методом дугового разряда. Размер кристаллитов, по-видимому, не коррелирует с токсичностью вещества, однако увеличение содержания РФК связано с увеличением удельной площади поверхности материалов и ростом положительного значения дзета-потенциала. МУНТ с низким содержанием примесей не оказывали серьезного влияния на клетки, тогда как МУНТ с примесями железа снижали жизнеспособность клеток и вызывали образование РФК. На основании результатов исследований, посвященных изучению токсичности углеродных материалов, был предложен количественный критерий — фактор токсичности. Было доказано, что этот фактор успешно предсказывает токсичность материалов исходя из их чистоты (содержания примесей), площади поверхности и дзета-потенциала и хорошо коррелирует со способностью материалов стимулировать образование РФК в клетках.

Был также проведен сравнительный анализ катализаторов, которые обычно применяются для синтеза углеродных наноматериалов. Оказалось, что примесь Al_2O_3 практически не влияет на состояние клеток. В случае частиц металлических катализаторов, не содержащих Al_2O_3 , токсичность не зависела от размера частиц, но определялась величиной дзета-потенциала. Наиболее высокое значение дзета-потенциала и самый высокий уровень токсичности продемонстрировали кобальт и никель. Окислительный стресс, вызванный частицами кобальта, никеля и железа, повышался с увеличением возраста дисперсии,

причем наиболее выраженное действие оказывало железо. Вероятно, это было связано с растворимостью частиц в клеточной среде. Для подтверждения этой гипотезы требуются дополнительные эксперименты, однако, основываясь на результатах настоящего исследования, можно предположить, что частицы металлических катализаторов с малой растворимостью и низким дзета-потенциалом будут оказывать на клетки минимальное токсическое действие.

Дальнейшие подходы к изучению токсичности материалов можно подразделить на биологические и инженерные. Биологический подход может помочь в поиске нужных критических показателей, на основании которых рассчитывается фактор токсичности. В данном исследовании эти критические показатели были рассчитаны для материала, имеющего максимальные значения I и SA, правда, не оказывающего на клетки токсического влияния. Возможно, дополнительные систематические исследования позволят найти более подходящие параметры. Кроме того, можно воспользоваться другим источником информации относительно содержания примесей. В данном случае мы основывались на результатах метода ИСП, в ходе которого материал растворяют в кислоте и определяют общее содержание примесей. Однако в этих экспериментах некоторые примеси могли оставаться включенными в частицы материала, поэтому количество воздействующих на клетки примесей может быть гораздо меньшим. По-видимому, корректнее будет использовать метод, позволяющий оценить количество примесей лишь на поверхности частиц. Кроме улучшения предсказательной возможности фактора токсичности *in vitro* было бы полезно разработать аналогичный фактор для предсказания токсичности материалов *in vivo*.

Другое направление применения биологического подхода может быть связано с получением дополнительной информации о взаимодействиях между УНТ и клеточной мембраной. Основное внимание следует уделить изучению рецепторов, с которыми связываются частицы наноматериала, и установлению механизмов развития токсичности, коррелирующих с воздействием УНТ на поверхность клеток. Известно, что повреждение клеточной мембраны приводит к изменению содержания внутриклеточного кальция и, таким образом, стимулирует захват кальция митохондриями. Этот процесс приводит к нарушению мембранного митохондриального потенциала и отсоединению актина от якорных белков, что способствует изменению морфологии клетки. Нарушение мембранного митохондриального потенциала также может мешать образованию АТФ, что снижает жизнеспособность клеток [73]. Эти гипотезы, объясняющие полученные нами результаты, требуют дополнительной проверки.

В рамках инженерного подхода к изучению токсичности материалов для предсказания поведения наноматериалов в организме можно использовать методы молекулярной динамики или сочетание молекулярной динамики с гидродинамическим моделированием. Это может оказаться полезным для анализа поведения наноматериалов в дыхательных путях, их диффузии через слои эпителиальных клеток или

внутриклеточных процессах переноса. Кроме применения моделей полезно изучить кинетические свойства материалов в биологических средах, например кинетику поверхностных взаимодействий наноматериалов и биологических систем. Также следует обратить внимание на кинетические механизмы растворения металлических частиц, чтобы понять причину увеличения синтеза РФК со временем. Дальнейшее изучение токсичности наноматериалов может вестись по многим направлениям, и все они важны для создания общей картины, отражающей взаимосвязь структуры и активности этих материалов, без понимания которой невозможен прогресс в этой области.

В будущем синтез наноматериалов должен быть оптимизирован для снижения риска для здоровья, и сделать это можно на основании знаний о токсичности наноматериалов, определенных в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. А пока каждый исследователь сам должен защищать себя от вдыхания или другого контакта с тем наноматериалом, с которым он работает.

Литература

1. Banfield J.F., Navrotsky A., Eds. Nanoparticles and the Environment. Washington, DC: Mineralogical Society of America, 2001.
2. Henig R.M. Our silver-coated future. *On Earth* 2007; 29(3): 22–29.
3. West J.L., Halas N.J. Engineered nanomaterials for biophotonics applications: Improving sensing, imaging, and therapeutics. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2003; 5: 285–292.
4. Jung H., Kittelson D.B., Zachariah M.R. The influence of a cerium additive on ultrafine diesel particle emissions and kinetics of oxidation. *Comb. Flame* 2005; 142: 276–288.
5. AZoNanotechnology.com. Carbon Nanotubes—Applications of Carbon Nanotubes (Buckytubes). 2007; October 2007. www.azonano.com/details.asp?ArticleID=980.
6. Shi Kam N.W., O'Connell M., Wisdom J.A., Dai H. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 11600–11605.
7. Shi Kam N.W., Dai H. Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: Generality and biological functionality. *J. Am. Chem. Soc.* 2005; 127: 6021–6026.
8. Warheit D.B. What is currently known about the health risks related to carbon nanotube exposures? *Carbon* 2006; 44: 1064–1069.
9. Oberdörster G., Maynard A., Donaldson K., Castranova V., Fitzpatrick J., Ausman K., et al. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: Elements of a screening strategy. *Part. Fibre. Toxicol.* 2005; 2: 8.

10. Merrill R.A. Regulatory Toxicology. In "Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons" (Klaassen C.D., Ed.). Chicago: McGraw Hill, 2001: pp. 1141–1153.
11. Lippman M. Biophysical Factors Affecting Toxicity. In "Fiber Toxicology" (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 259–303.
12. Hu E.L., Shaw C.T. Synthesis and Assembly. In "Nanostructure Science and Technology: R&D Status and Trends in Nanoparticles, Nanostructured Materials, and Nanodevices." (Siegel R.W., Hu E., Roco M.C., Eds.) Baltimore, MD: Kluwer Academic, 1999: pp. 15–34.
13. Suslick K., Hyeon T., Fang M. Nanostructured materials generated by high intensity ultrasound: Sonochemical synthesis and catalytic studies. *Chem. Mater.* 1996; 8: 2172–2179.
14. Little R., Wang X., Goddard R. Nano-diamond synthesis in strong magnetic field. *J. Cluster Sci.* 2005; 16(1): 53–63.
15. Vul Y.A., Eidelman E.D., Dideikin A.T. Thermoelectric Effects in Field Electron Emission from Nanocarbon. In "Synthesis, Properties and Applications of Ultrananocrystalline Diamond" (Gruen D.M. et al., Eds.). Netherlands: Springer, 2005: pp. 383–394.
16. Kulakova II. Chemical Properties of Nanodiamond. In "Innovative Superhard Materials and Sustainable Coatings for Advanced Manufacturing" (Lee J., Novikov N., Eds). Netherlands: Springer, 2005: pp. 365–379.
17. Shevchenko V.Y., Madison A.E., Mackay A.L. Coherent coexistence of nanodiamonds and carbon onions in icosahedral core-shell particles. *Acta Cryst.* 2007; A63: 172–176.
18. Sano N., Wang H., Alexandrou I., Chhowalla M., Teo K.B.K., Amaratunga G.A. Properties of carbon onions produced by an arc discharge in water. *J. Appl. Phys.* 2002; 92(5): 2783–2788.
19. Viculis L.M., Mack J.J., Mayer O.M., Hahn T., Kaner R.B. Intercalation and exfoliation routes to graphite nanoplatelets. *J. Mater. Chem.* 2005; 15: 974–978.
20. Lee B.J. Characteristics of exfoliated graphite prepared by intercalation of gaseous SO₃ into graphite. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2002; 23(12): 1801.
21. Inagaki M. New Carbons: Control of Structure and Functions. Oxford: Elsevier Science, 2000.
22. Lueking A.D., Deepa L.P., Narayanan L., Clifford C.B. Exfoliated graphite nanofibers for hydrogen storage. *J. Phys. Chem. B* 2005; 109(26): 12710–12717.
23. Nic M., Jirat J., Kosata B. IUPAC Compendium of Chemical Terminology, Electronic version. 2005; July 2007. <http://goldbook.iupac.org/C00824.html>.
24. Mantell C.L. Carbon and Graphite Handbook. New York: Interscience, 1968.

25. Hutcheon J.M. Polycrystalline Carbon and Graphite. In “Modern Aspects of Graphite Technology” (Blackman L.C.F., Ed.) New York: Academic Press, 1970: pp. 37–39.
26. Davidson H.W. Manufactured Carbon. New York: Pergamon Press, 1968.
27. Department of Defense Director. Defense Nanotechnology Research and Development. 2005; July 2007. www.nano.gov/html/res/DefenseNano2005.pdf.
28. Luchtel D.L. Carbon/Graphite Toxicology. In “Fiber Toxicology” (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 493–521.
29. Pierson H.O. Handbook of Carbon, Graphite, Diamonds and Fullerenes. Norwich, NY: William Andrew, 1994.
30. AZoNanotechnology.com. Buckminsterfullerene — A Review Covering the Discovery, Structure, Production, Properties and Applications of Buckyballs. 2007; November 2007. www.azonano.com/details.asp?ArticleID=1641.
31. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 1991; 354: 56–58.
32. Dresselhaus M., Dresselhaus G., Eklund P., Saito R. Carbon nanotubes. *Phys. World* 1998; January: 33–44.
33. Peigney A., Laurent C.H., Flahaut E., Bacsa R., Rousset A. Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon* 2001; 39(4): 507–514.
34. Mik Cs., Milas M., Seo J.W., Couteau E., Bariaie N., Gal R., Forr. Electrical Properties of Single-Walled Carbon Nanotube Fiber under Electron Irradiation. In “Nano-Architected and Nanostructured Materials” (Champion Y., Fecht H., Eds.). Germany: Wiley-VCH, 2004, pp. 17–20.
35. Ye Y., Ahn C.C., Witham C., Fultz B., Liu J., Rinzler A.G., Colbert D., Smith K.A., Smalley R.E. Hydrogen adsorption and cohesive energy of single-walled carbon nanotubes. *Appl. Phys. Lett.* 1999; 74(16): 2307–2309.
36. Cox D.M. High Surface Area Materials. In “Nanostructure Science and Technology: R&D Status and Trends in Nanoparticles, Nanostructured Materials, and Nanodevices.” (Siegel R.W., Hu E., Roco M.C., Eds.) Baltimore, MD: Kluwer Academic, 1999: pp. 49–66.
37. Yoong H., Jabbar T. Carbon nanofibers get new respect. *R&D Magazine* 2005; December: 21.
38. Chopek J., Czajkowska B., Szaraniec B., Frackowiak E., Szostak K., Bguin F. In vitro studies of carbon nanotubes biocompatibility. *Carbon* 2006; 44: 1106–1111.
39. Zhao B., Hu H., Mandal S.K., Haddon R.C. A bone mimic based on the self-assembly of hydroxyapatite on chemically functionalized single-walled carbon nanotubes. *Chem. Mater.* 2005; 17(12): 3235–3241.

40. Webster T.J., Waid M.C., McKenzie J.L., Price R.L., Ejiofor J.U. Nano biotechnology: Carbon nanofibres as improved neural and orthopaedic implants. *Nanotechnology* 2004; 15: 48–54.
41. Nguyen-Vu T.D.B., Chen H., Cassell A.M., Andrews R.J., Meyyappan M., Li J. Vertically aligned carbon nanofiber architecture as a multifunctional 3-D neural electrical interface. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2007; 54(6): 1121–1128.
42. Hu H., Ni Y., Montana V., Haddon R.C., Parpura V. Chemically functionalized carbon nanotubes as substrates for neuronal growth. *Nano Lett.* 2004; 4: 507–511.
43. Yao G., Wang L., Wu Y., Smith J., Xu J., Zhao W., Lee E., Tan W. FloDots: Luminescent nanoparticles. *Anal. Bioanal. Chem.* 2006; 385: 518–524.
44. Csögör Z., Nacken M., Sameti M., Lehr C.M., Schmidt H. Modified silica nanoparticles for gene delivery. *Mater. Sci. Eng. C* 2003; 23: 93–97.
45. Hu S., Liu J., Yang T., Liu H., Huang J., Lin Q., Zhu G., Huang X. Determination of human alpha-fetoprotein (AFP) by solid substrate room temperature phosphorescence enzyme-linked immune response using luminescent nanoparticles. *Microchim. Acta* 2005; 152(1–2): 53–59.
46. Peng J., He X., Wang K., Tan W., Wang Y., Liu Y. Noninvasive monitoring of intracellular pH change induced by drug stimulation using silica nanoparticle sensors. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007; 388(3): 645–654.
47. Alt V., Bechert T., Steinrucke P., Wagener M., Seidel P., Dingeldein E., Domann E., Schnettler R. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomater.* 2004; 25: 4383–4391.
48. Anshup J., Venkataraman S., Subramaniam C., Rajeev Kumar R.R., Priya S., Santhosh Kumar T.R., Omkumar R.V., John A., Pradeep T. Growth of gold nanoparticles in human cells. *Langmuir* 2005; 21(25): 11562–11567.
49. Miziolek A. Nanoenergetics: An emerging technology area of national importance. *AMPTIAC Q* 2002; 6(1): 43–48.
50. Pathak P., Katiyar V.K., Shibashish G. Cancer research–Nanoparticles, nanobiosensors and their use in cancer research. *J. Nanotech. Online* 2007; doi: 10.2240/azojono0116.
51. Wallace W., Keane M., Murray D., Chisholm W., Maynard A., Ong T. Phospholipid lung surfactant and nanoparticle surface toxicity: Lessons from diesel soots and silicate dusts. *J. Nanoparticle Res.* 2007; 9: 23–28.
52. Nel A., Xia T., Mdler L., Li N. Toxic potential of materials at the nano-level. *Science* 2006; 331(5761): 622–627.
53. Gogotsi Y. How safe are nanotubes and other nanofilaments? *Mat. Res. Innovat.* 2003; 7: 192–194.

54. Hoet P., Briusle-Hohlfeld I., Salata O. Nanoparticles—Known and unknown health risks. *J. Nanobiotechnol.* 2004; 2(1): 12.
55. Enderle J., Blanchard S., Bronzino J. Introduction to Biomedical Engineering. New York: Elsevier Academic Press, 2005.
56. Rozman K.K., Klaassen C.D. Absorption, Distribution, and Excretion of Toxicants. In “Casarett and Doull’s Toxicology: The Basic Science of Poisons” (Klaassen CD, Ed.). Chicago: McGraw-Hill, 2001: pp. 107–132.
57. Tinkle S.S., Antonini J.M., Rich B.A., Roberts J.R., Salmen R., DePree K., et al. Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease. *Environ. Health Perspect.* 2003; 111: 1202–1208.
58. Gopee N.V., Roberts D.W., Webb P., Cozart C.R., Siitonen P.H., Warbritton A.R., Yu W.W., Colvin V.L., Walker N.J., Howard P.C. Migration of intradermally injected quantum dots to sentinel organs in mice. *Toxicol Sci* 2007; 98(1): 249–257.
59. Luther W., Ed. Industrial application of nanomaterials—Chances and risks. *Future Technologies* 2004; 54: 1–112.
60. Cook M.J., Nasset E.S., Karhausen L.R., Howells G.P., Tipton I.H. Report of the Task Group on Reference Man. Oxford, New York: Pergamon Press, 1975.
61. Möller W., Haussinger K., Winkler-Heil R., Stahlhofen W., Meyer T., Hofmann W., Heyder J. Mucociliary and long-term particle clearance in the airways of healthy nonsmoker subjects. *J. Appl. Physiol.* 2004; 97: 2200–2206.
62. Rogers D.F., Lethem M.I., Eds. Airway Mucus: Basic Mechanisms and Clinical Perspectives. Germany: Birkhauser Verlag, 1997.
63. Schürch S., Geiser M., Lee M.M., Gehr P. Particles at the airway interfaces of the lung. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 1999; 15: 339–353.
64. Warheit D.B. Preface. In “Fiber Toxicology” (Warheit DB, Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. xxiii–xxiv.
65. Kotin P. A Historical Perspective of Fiber-Related Disease. In “Fiber Toxicology” (Warheit DB, Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 1–14.
66. Oberdörster G., Ferin J., Lehnert B.E. Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. *Environ. Health Perspect.* 1994; 102 (Suppl 5): 173–179.
67. Khanvilkar K., Donovan M.D., Flanagan D.R. Drug transfer through mucus. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2001; 48: 173–193.
68. Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E., Kikuchi K., Kananishi S., Sueki K., et al. In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: ¹⁴C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. *Chem. Biol.* 1995; 2: 385–389.
69. Jani P.U., McCarthy D.E., Florence A.T. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *Int. J. Pharm.* 1994; 105: 157–168 (abstract).

70. Witschi H.R., Last H.A. Toxic Responses of the Respiratory System. In "Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons" (Klaassen C.D., Ed.). Chicago: McGraw-Hill, 2001: pp. 515–534.
71. Nemmar A., Vanbilloen H., Hoylaerts M.F., Hoet P.H., Verbruggen A., Nemery B. Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 1665–1668.
72. Nemmar A., Hoet P.H., Vanquickenborne B., Dinsdale D., Thomeer M., Hoylaerts M.F., Vanbilloen H., Mortelmans L., Nemery B. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 2002; 105: 411–414.
73. Gragus Z., Klaassen C.D. Mechanisms of Toxicity. In "Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons" (Klaassen C.D., Ed.). Chicago: McGraw-Hill, 2001: pp. 35–81.
74. Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter R., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(8): 1172–1178.
75. Eaton D.L., Klaassen C.D. Principles of Toxicology. In "Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons" (Klaassen C.D., Ed.). Chicago: McGraw-Hill, 2001: pp. 11–34.
76. Hesterberg T.W., Hart G.A., Bunn W.B. In Vitro Toxicology of Fibers: Mechanistic Studies and Possible Use for Screening Assays. In "Fiber Toxicology" (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 139–170.
77. Rausch L.J., Bisinger Jr. E.C., Sharma A. Carbon black should not be classified as a human carcinogen based on rodent bioassay data. *Regul. Toxicol. Pharm.* 2004; 40: 28–41.
78. Johnson N.F. The Limitations of Inhalation, Intratracheal, and Intracoelemic Routes of Administration for Identifying Hazardous Fibrous Materials. In "Fiber Toxicology" (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 43–72.
79. Cohn L.A., Akley N.J., Adler K.B. Study of Xenobiotics with Airway Epithelium In Vitro. In "Fiber Toxicology" (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 171–194.
80. Freshney R.I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. New Jersey: Wiley-Liss, 2005.
81. Ferguson D.G. Ultrastructure of Cells. In "Cell Physiology Source Book," 2nd Ed. (Sperelakis N., Ed.) New York: Academic Press, 1995, pp. 75–90.
82. McGrath J.L., Dewey C.F. Cell Dynamics and the Actin Cytoskeleton. In "Cytoskeletal Mechanics: Models and Measurements" (Mofrad M.R.K., Kamm R.D., Eds.) New York: Cambridge University Press, 2006, pp. 170–203.

83. Carlier M.F. Actin: Protein structure and filament dynamics. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 1–4.
84. Bray D. Cell Movements. New York: Garland, 1992, pp. 406.
85. Schmidt A., Hall M.N. Signaling to the actin cytoskeleton. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1998; 14: 305–338.
86. Schoenwaelder S.M., Burridge K. Bidirectional signaling between the cytoskeleton and integrins. *Curr. Opin. Cell Bio.* 1999; 11: 274–286.
87. Ekwall B. Screening of Toxic Compounds in Mammalian Cell Cultures. In “Cellular Systems for Toxicity Testing” (Williams G.M., Dunkel V.C., Ray V.A., Eds.). Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 407, 1983, pp. 64–77.
88. Fubini B. The Possible Role of Surface Chemistry in the Toxicity of Inhaled Fibers. In “Fiber Toxicology” (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 229–257.
89. Kennedy G.L., Kelly D.P. Introduction to Fiber Toxicology. In “Fiber Toxicology” (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 15–42.
90. Oberdörster G., Ferin J., Gelein R., Finkelstein J. Role of alveolar macrophages in lung injury: Studies with ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.* 1992; 97: 193–199.
91. Bridges J.W., Benford D.J., Hubbard S.A. Mechanisms of Toxic Injury. In “Cellular Systems for Toxicity Testing” (Williams GM, Dunkel VC, Ray VA, Eds.) Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 407, 1983: pp. 42–63.
92. Guerrero A., Arias J.M. Apoptosis. In “Cell Physiology Source Book, 2nd ed.” (Sperelakis N., Ed.). New York: Academic Press, 1995, pp. 1031–1043.
93. Tsuji J.S., Maynard A.D., Howard P.C., James J.T., Lam C.W., Warheit D.B., Santamaria A.B. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part IV: Risk assessment of nanoparticles. *Toxicol. Sci.* 2006; 89: 42–50.
94. Gilmour P.S., Ziesenis A., Morrison E.R., Vickers M.A., Drost E.M., Ford I., et al. Pulmonary and systemic effects of short-term inhalation exposure to ultrafine carbon black particles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2004; 195: 35–44.
95. Stone V., Shaw J., Brown D.M., Macnee W., Faux S.P., Donaldson K. Role of oxidative stress in the prolonged inhibitory effect of ultrafine carbon black on epithelial cell function. *Toxicol. In Vitro* 1998; 12: 649–659.
96. Wilson M.R., Lightbody J.H., Donaldson K., Sales J., Stone V. Interactions between ultrafine particles and transition metals in vivo and in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2002; 184: 172–179.
97. Schrand A.M., Huang H., Carlson C., Schlager J.J., Ohsawa E., Husain S.M., Dai L.D. Are diamond nanoparticles cytotoxic? *J. Phys. Chem. B* 2007; 111: 2–7.

98. Ding L., Stilwell J., Zhang T., Elboudwarej O., Jiang H., Selegue J.P., Cooke P.A., Gray J.W., Chen F.F. Molecular characterization of the cytotoxic mechanism of multiwall carbon nanotubes and nano-onions on human skin fibroblast. *Nano Lett.* 2005; 5: 2448–2464.
99. Sayes C.M., Gobin A.M., Ausman K.D., Mendez J., West J.L., Colvin V.L. Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation. *Biomater.* 2005; 26(36): 7587–7595.
100. Isakovic A., Markovic Z., Todorovic-Markovic B., Nikolic N., Vranjes-Djuric S., Mirkovic M., et al. Distinct cytotoxic mechanisms of pristine versus hydroxylated fullerene. *Toxicol. Sci.* 2006; 91(1): 173–183.
101. Oberdorster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environ. Health Persp.* 2004; 112: 1058–1062.
102. Usenko C.Y., Harper S.L., Tanguay R.L. In vivo evaluation of carbon fullerene toxicity using embryonic zebrafish. *Carbon* 2007; 45(9): 1891–1898.
103. Sayes C.M., Fortner J.D., Guo W., Lyon D., Boyd A.M., Ausman K.D., Tao Y.J., Sitharaman B., Wilson L.J., Hughes J.B., West J.L., Colvin V. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. *Nano Lett.* 2004; 4: 1881–1887.
104. Sayes C.M., Marchione A., Reed K., Warheit D. Comparative pulmonary toxicity assessments of C60 water suspensions in rats: Few differences in fullerene toxicity in vivo in contrast to in vitro profiles. *Nano Lett.* 2007; 7(8): 2399–2406.
105. Hilaski R.J., Bergmann, J.D., Burnett D.C., Muse W.T., Thomson S.A. Acute inhalation of explosively disseminated carbon fibers in rats. Edgewood Research Development and Engineering Center Aberdeen Proving Ground MD. 1994; July 2007. <http://handle.dtic.mil/100.2/ADA280556>.
106. Vu V.T., Dearfield K.L. Biological Effects of Fibrous Materials in Experimental Studies and Related Regulatory Aspects. In “Fiber Toxicology” (Warheit D.B., Ed.). New York: Academic Press, 1993: pp. 449–492.
107. Price R.L., Haberstroh K.M., Webster T.J. Improved osteoblast viability in the presence of smaller nanometer dimensioned carbon fibres. *Nanotechnol* 2004; 15: 892–900.
108. Herzog E., Casey A., Lyng F.M., Chambers G., Byrne H.J., Davoren H. A new approach to the toxicity testing of carbon-based nanomaterials—The clonogenic assay. *Toxicol. Lett.* 2007; 174: 49–60.
109. Jia G., Wang H., Yan L., Wang X., Pei R., Yan T., Zhao Y., Guo X. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: Single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environ. Sci. Technol.* 2005; 39: 1378–1383.

110. Soto K.F., Carrasco A., Powell T.G., Garza K.M., Murr L.E. Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy. *J. Nanopart. Res.* 2005; 7: 145–169.
111. Magrez A., Kasas S., Salicio V., Pasquier N., Seo J.W., Celio M., Catsicas S., Schwaller B., Forro L. Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials. *Nano Lett.* 2006; 6: 1121–1125.
112. Pulskamp K., Diabate S., Krug H.F. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants. *Toxicol. Lett.* 2007; 168: 58–74.
113. Monteiro-Riviere N.A., Nemanich R.J., Inman A.O., Wang Y.Y., Riviere J.E. Multiwalled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol. Lett.* 2005; 155: 377–384.
114. Cui D., Tian F., Ozkan C.S., Wang M., Gao H. Effect of single wall carbon nanotubes on human HEK293 cells. *Toxicol. Lett.* 2007; 155: 73–85.
115. Flahaut E., Durrieu M.C., Remy-Zolghadri M., Bareille R., Baquey C. Investigation of the cytotoxicity of CCVD carbon nanotubes towards human umbilical vein endothelial cells. *Carbon* 2006; 44: 1093–1099.
116. Huczko A., Lange H. Carbon nanotubes: Experimental evidence for a null risk of skin irritation and allergy. *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct* 2001; 9: 247–250 (abstract).
117. Lam, C.W., James J.T., McCluskey R., Hunter R.L. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Resp. Toxicol.* 2004; 77: 126–134.
118. Muller J., Huaux F., Moreau N., Misson P., Heilier J.F., Delos M., et al. Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005; 207: 221–231.
119. Warheit D.B., Laurence B.R., Reed K.L., Roach D.H., Reynolds G.A., Webb T.R. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicol. Sci.* 2004; 77: 117–125.
120. Shvedova A.A., Kisin E.R., Mercer R., Murray A.R., Johnson V.J., Potapovich A.I., et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single walled carbon nanotubes in mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2005; 289(5): L696–L697.
121. Mitchell L.A., Gao J., Vander Wal R., Gigliotti A., Burchiel S.W., McDonald J.D. Pulmonary and systemic immune response to inhaled multi-walled carbon nanotubes. *Toxicol. Sci.* 2007; 100(1): 203–214.
122. Sayes C.M., Liang F., Hudson J.L., Mendez J., Guo W., Beach J.M., Moore V.C., Doyle C.D., West J.L., Billups W.E., Ausman K.D., Colvin V.L. Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro. *Toxicol. Lett.* 2005; 161: 135–142.
123. Dutta D., Sundaram S.K., Teeguarden J.G., Riley B.J., Fifield L.S., Jacobs J.M., Addleman S.R., Kaysen G.A., Moudgil B.M., Weber T.J. Adsorbed proteins influence the biological activity and molecular targeting of nanomaterials. *Toxicol. Sci.* 2007; 100(1): 303–315.

124. Raja P.M.V., Connolley J., Ganesan G.P., Ci L., Ajayan P.M., Nalamasu O., Thompson D.M. Impact of carbon nanotube exposure, dosage and aggregation on smooth muscle cells. *Toxicol. Lett.* 2007; 169(1): 51–63.
125. Tian F., Cui D., Schwarz H., Estrada G.G., Kobayashi H. Cytotoxicity of single-wall carbon nanotubes on human fibroblasts. *Toxicol. In Vitro* 2006; 20(7): 1202–1212.
126. Zhang Q., Kusaka Y., Sato K., Nakakuki K., Kohyama N., Donaldson K. Differences in the extent of inflammation caused by intratracheal exposure to three ultrafine metals: Role of free radicals. *J. Toxicol. Environ. Health. A* 1998; 53: 423–438.
127. Zhang Q., Kusaka Y., Sato K., Nakakuki K., Kohyama N., Donaldson K. Toxicity of ultrafine nickel particles in lungs after intratracheal instillation. *J. Occup. Health* 1998; 40: 171–176.
128. Zhou Y.M., Zhong C.Y., Kennedy I.M., Pinkerton K.E. Pulmonary responses of acute exposure to ultrafine iron particles in health adult rats. *Environ. Toxicol.* 2003; 18: 227–235.
129. Wagner A.J., Bleckmann C.A., Murdock R.C., Schrand A.M., Schlager J.J., Hussain S.M. Cellular interaction of different forms of aluminum nanoparticles in rat alveolar macrophages. *J. Phys. Chem. B* 2007; 111: 7353–7359.
130. De Boeck M., Lardau S., Buchet J.P., Kirsch-Volders M., Lison D. 2000. Absence of significant genotoxicity in lymphocytes and urine from workers exposed to moderate levels of cobalt-containing dust: A cross-sectional study. *Environ. Molecular Mutagenesis* 2000; 36: 151–160.
131. Hussain S.M., Hess K.L., Gearhart J.M., Geiss K.T., Schlager J.J. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol. In Vitro* 2005; 19: 975–983.
132. Brown D.M., Wilson M.R., MacNee W., Stone V., Donaldson K. Size dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: A role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2001: 175; 191–199.
133. Donaldson K., Stone V., Gilmour P.S., Brown D.M., MacNee W. Ultrafine particles: Mechanisms of lung injury. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* 2000: 358; 2741–2749.
134. Oberdörster G., Ferin J., Lehnert B.E. Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. *Environ. Health Perspect.* 1994; 102(Suppl 5): 173–179.
135. Sayes C.M., Wahi R., Kurian P.A., Liu Y., West J.L., Ausman K.D., Warheit D.B., Colvin V.L. Correlating nanoscale titania structure with toxicity: A cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicol. Sci.* 2006; 92(1): 174–185.

136. Light W.G., Wei E.T. Surface charge and asbestos toxicity. *Nature* 1977; 26: 537–539.
137. Jakab G.J. The toxicologic interactions resulting from inhalation of carbon black and acrolein on pulmonary antibacterial and antiviral defenses. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 121: 167–175.
138. Jakab G.J., Clarke R.W., Hemenway D.R., Longphre M.V., Kleeberger S.R., Frank R. Inhalation of acid coated carbon black particles impairs alveolar macrophage phagocytosis. *Toxicol. Lett.* 1996; 88: 243–248.
139. Oberdrster, G. Toxicology of ultrafine particles: in vivo studies. *Philos. Trans. R. Soc. A* 2000; 358: 2719–2740.
140. Renwick L.C., Donaldson K., Clouter A. Impairment of alveolar macrophage phagocytosis by ultrafine particles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2001; 172(2): 119–127.
141. Lundborg M., Johard U., Lastbom L., Gerde P., Camner P. Human alveolar macrophage phagocytic function is impaired by aggregates of ultrafine carbon particles. *Environ. Res.* 2001; 86(3): 244–253.
142. Fiorito S., Serafino A., Andreola F., Bernier P. Effects of fullerenes and single-wall carbon nanotubes on murine and human macrophages. *Carbon* 2006; 44: 1100–1105.
143. Wörle-Knirsch J.M., Pulskamp K., Krug H.F. Oops they did it again! Carbon nanotubes hoax scientists in viability assays. *Nano Lett.* 2006; 6: 1261–1268.
144. Stone V., Donaldson K. Nanotoxicology: Signs of stress. *Nature Nanotechnol.* 2006; 1: 23–24.
145. Nimmagadda A., Thurston K., Nollert M.U., McFetridge P.S. Chemical modification of SWNT alters in vitro cell-SWNT interactions. *J. Biomed. Mater. Res.* 2005; 76A(3): 614–625.
146. Lippmann M. Review. Asbestos exposure indices. *Environ. Res.* 1988; 46: 86–106.
147. Powers K.W., Brown S.C., Krishna V.B., Wasdo S.C., Moudgil B.M., Roberts S.M. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part VI. Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. *Toxicol. Sci.* 2006; 90(2): 296–303.
148. Fultz B., Howe J.M. Transmission Electron Microscopy and Diffraction of Materials. Germany: Springer, 2001.
149. Ernst F., Sigle W. Microcharacterisation of Materials. In “High-Resolution Imaging and Spectrometry of Materials” (Ernst F., Ruhle, Eds.). Germany: Springer, 2003; pp. 4–5.
150. Smart L., Moore E.A. Solid State Chemistry: An Introduction. New York: Taylor & Francis, 2005.
151. Papp R.B. X-ray Fluorescence Spectrometry. In “Instrumental Methods for Determining Elements” (Taylor L.R., Papp R.B., Pollard B.D., Eds.). New York: VCH, 1994; pp. 211–261.

152. Murthy N.S., Reidinger F. X-Ray Analysis. In "A Guide to Materials Characterization and Chemical Analysis" (Sibilia J.P., Ed). New York: VCH, 1996; pp. 161–163.
153. Williams R.J., Bause D.E. Elemental and Chemical Analysis. In "A Guide to Materials Characterization and Chemical Analysis" (Sibilia J.P., Ed.). New York: VCH, 1996; pp. 130–132.
154. Davidson M.W., Abramowitz M. Optical Microscopy. *Olympus Microscopy Resource Center*. December 1999; May 2006.
155. PerkinElmer Life and Analytical Sciences. Guide to Inorganic Analysis. Shelton, CN: 2004.
156. Spectroscopy. 2008. In Encyclopaedia Britannica. Retrieved March 7, 2008, from Encyclopaedia Britannica Online: www.britannica.com/eb/article-80630.
157. Ko F.K. Nanofiber Technology: Bridging the Gap between Nano and the Macro World. Guceri S., Gogotsi Y.G., Kutznetsov V. (Eds). Nanoengineered Nanofibrous Materials. NATO Science Series Vol 169. Springer 2004 Turkey. Proceedings of NATO Advanced Study Institute on Nanoengineered Nanofibrous Materials, pp. 1–18.
158. Malvern Instruments Ltd. Zetasizer User Manual. MAN0172 Issue 1.1; Worcestershire, UK: 1996.
159. Skebo J.E., Grabinski C.M., Schrand A.M., Schlager J.J., Hussain S.M. Assessment of metal nanoparticle agglomeration, uptake, and interaction using high-illuminating system. *Intl. J. Toxicol.* 2007; 26: 135–141.
160. Vainrub A., Pustovyy O., Vodyanoy V. Resolution of 90 nm ($\lambda/5$) in an optical transmission microscope with an annular condenser. *Opt. Lett.* 2006; 31: 2855–2857.
161. Steyger P. Assessing confocal microscopy systems for purchase. *Methods* 1999; 18: 435–446.
162. Garside J.R., Somekh M.G., See C.W. Biological imaging using fast laser scanning heterodyne differential phase confocal microscopes. *J. Microsc.* 1997; 185: 385–395.
163. Stringer B., Imrich A., Kobzik L. Flow cytometric assay of lung macrophage uptake of environmental particulates. *Cytometry* 1995; 20: 23–32.
164. Carmichael J., DeGraff W.G., Gazdar A.F., Minna J.D., Mitchell J.B. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* 1987; 47: 936–942.
165. Monteiro-Riviere N.A., Inman A.O. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin. *Carbon* 2006; 44: 1070–1078.
166. Wick P., Manser P., Limbach L.K., Dettlaff-Weglikowskab U., Krumeich F., Roth S., Stark W.J., Bruinink A. The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity. *Toxicol. Lett.* 2007; 168: 121–131.

167. Kocbach A., Totlandsdal A.I., Låg M., Refsnes M., Schwarze P.E. Differential binding of cytokines to environmentally relevant particles: A possible source for misinterpretation of in vitro results? *Toxicol. Lett.* 2008; 176: 131–137.
168. Toescu E.C., Verkhatsky A. Assessment of mitochondrial polarization status in living cells based on analysis of the spatial heterogeneity of rhodamine 123 fluorescence staining. *Pflügers Archiv* 2000; 440(6): 941–947.
169. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: Some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.* 1986; 246(2): 501–514.
170. Wang H., Joseph J.A. Quantitating cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. *Free Rad. Biol. Med.* 1999; 27: 612–616.
171. Poser I., Rahman Q., Lohani M., Yadav S., Becker H.H., Weiss D.G., Schiffmann D., Dopp E. Modulation of genotoxic effects in asbestos-exposed primary human mesothelial cells by radical scavengers, metal chelators and a glutathione precursor. *Mutation Res./Genet. Toxicol. Environ. Mutagenesis* 2004; 559: 19–27.
172. Lund L.G., Aust A.E. Iron mobilization from crocidolite asbestos greatly enhances crocidolite-dependent formation of DNA single-strand breaks in X174 RFI DNA. *Carcinogenesis* 1992; 13: 637–642 (abstract).
173. Guo L., Morris D.G., Liu X., Vaslet C., Kane A.B., Hurt R.H. Iron bioavailability and redox activity in diverse carbon nanotube samples. *Chem. Mater.* 2007; 19(14): 3472–3478.
174. Kino-oka M., Prenosil J.E. Development of an on-line monitoring system of human keratinocyte growth by image analysis and its application to bioreactor culture. *Biotechnol. Bioeng.* 2000; 67(2): 234–239.
175. Ehret R., Baumann W., Brischman M., Schwinde A., Stegbauer K., Wolf B. Monitoring of cellular behavior by impedance measurements on interdigitated electrode structures. *Biosens Bioelectron* 1997; 12(1): 29–41.
176. Sohn L.L., Saleh O.A., Facer G.R., Beavis A.J., Allan R.S., Notterman D.A. Capacitance cytometry: Measuring biological cells one by one. *PNAS* 2000; 97(20): 10687–10690.
177. Yeon J.H., Park J.K. Cytotoxicity test based on electrochemical impedance measurement of HepG2 cultured in microfabricated cell chip. *Anal Biochem* 2005; 341: 308–315.
178. Ceriotti L., Ponti J., Colpo P., Sabbioni E., Rossi F. Assessment of cytotoxicity by impedance spectroscopy. *Biosens Bioelectron* 2007; 22: 3057–3063.
179. Atienza Jm., Zhu J., Bowang X., Xu X., Abassi Y. Dynamic monitoring of cell adhesion and spreading on microelectronic sensor arrays. *J. Biomol. Screening* 2005; 10(8): 795–805.

180. Grabinski C., Saber H., Lafdi K., Effect of dimension on biocompatibility of carbon-based nanomaterials. *Carbon* 2007; 45: 2828–2835.
181. Beyersmann D., Hechtenberg S. Cadmium, gene regulation, and cellular signalling in mammalian cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997; 144(2): 247–261.
182. Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.* 2002; 53(366): 1–11.
183. Ernest D.M., Ristich V.L., Ray S., Lober R.M., Bollag W.B. Regulation of protein kinase d during differentiation and proliferation of primary mouse keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 2005; 125(2): 294–306.
184. Hashimoto K. Regulation of keratinocyte function by growth factors. *J. Dermatol. Sci.* 2000; 24(1): S46–S50.
185. Xia T., Kovochich M., Brant J., Hotze M., Sempf J., Oberley T., et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano Lett.* 2006; 6(8): 1794–1807.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Авидин** 193
- Агрегация** 99, 334
- Адгезионная прочность**
- в композитах графит/полимер 107
 - в композитах нанотрубки/полимер 33, 49
- Актин** 327, 371
- Алмаз** 315
- Апоптоз** 330
- индикаторы 349
- Асбест** 337
- Атомно-адсорбционная спектроскопия** 339
- Атомно-силовая микроскопия (АСМ)** 19, 339
- Аэробные условия** 210
- Биоинженерия** 159
- Биокompозиты**
- на основе ВКП 171
 - на основе ВКП/ПМК 172
 - на основе ПГА 217
 - на основе ПМК 295
 - на основе шелка 167
- Биоматериал** 159
- Биоразлагаемые полимеры** 183
- классификация 211
- Биоразложение** 210
- Биорезорбируемые полимеры** 183
- Биосовместимость** 159
- Бисульфат графита** 97
- Внеклеточный матрикс** 178, 286, 328
- Волокна куриных перьев (ВКП)** 168
- Волокна, метод получения**
- выращиванием из газовой фазы 317
 - химическим осаждением из газовой фазы 317, 320
- Воссозданный коллаген** 184
- Второй закон Ньютона** 21
- Гибридный материал** 11, 124
- Гидрогели**
- применение в системах доставки 287
 - применение в тканевой инженерии 183, 193
- Горючесть нанокомпозитов** 132, 134
- изучение с применением конического калориметра 128
- Графен** 23, 43
- моделирование взаимодействий с полимером 30
 - получение 100
- Графит** 96, 110, 316
- структура 316
 - эксфолиированный 317
 - электрические свойства 110
- Графитовые интеркалированные соединения (ГИС)** 96
- Двухслойная углеродная нанотрубка, молекулярная модель** 31
- Десмозины** 268
- Дзета-потенциал, измерение** 342
- Динамические свойства при сдвиге** 73
- Динамический механический анализ** 110

- Диспергирование 99
– нанотрубок в связующем 27
- Дифракция рентгеновских лучей 99, 109, 339, 342
- Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) 110, 174
- Желатин 185
- Железо, мобилизация 351
- Изоморфическое замещение 217
- ИК-спектроскопия 28, 339
- Импедансный метод 351
- Интегрины 328
- Интеркаляты 96
- Искусственные целлюлозные волокна 299
- Кератиноциты 329
- Клеточные линии 326, 329
- Коацервация эластина 253
- Коллаген 183, 184
– композиты 185
– нановолокна 185
- Комбинационное рассеяние (КР) 251, 339, 341
- Композиты нанотрубки/полимер, механизм передачи нагрузки 29
- Компостируемость 210
- Конфокальная микроскопия 346
- Кремневые наноматериалы 314
- Круговорот углерода 210
- Лазерный доплеровский электрофорез 339
- Масс-спектрометрия 339
- Материалы на основе углерода 315
- Матрикины 282
- Межфазная область 59, 66
- Металлосодержащие наночастицы 314
- Метод Брунауэра–Эмметт–Теллера 339
- Метод вдавливания 19
- Метод динамического светорассеяния 339, 342
- Метод дугового разряда 320
- Метод индуктивно-связанной плазмы (ИСП) 339
- Метод ИСП–ОЭС 341
- Метод конечных элементов (МКЭ) 17, 24
- Метод кругового дихроизма 249
- Метод молекулярно-динамического (МД) моделирования 17, 20, 30
– с использованием эмпирических потенциалов 23
- Метод оптической микроскопии 339, 348
- Метод оптической эмиссионной спектроскопии (ОЭС) 339
- Механизм мукоцилиарного клиренса 324
- Микроскопия
– в светлом поле 343
– в темном поле 343
- Многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) 18, 38, 320, 333, 360
– модуль упругости 19, 20, 24
– модуль Юнга 20, 26, 33
- Модель «скользящего β -поворота» 247
- Монтмориллонит (ММТ) 125, 218
- Мягкие коллоидные стекла 80
- Нанобиокомпозит 212
– на основе ПГА 217
– технология получения 219
- Нанобиотехнология 8
- Нановолокна
– механические свойства 44
– очистка 39
– структура 42
– термообработка 39
- Нановолокна коллагена, применение в тканевой инженерии 185
- Нанокompозиты 124
– механические свойства 52
– на основе ПГА 219
– ПГА/глина 217
– полимерные 101

- полимер/глина 71
- – аналогия с мягкими коллоидами 80
- полимер/графит 102, 115
- термические и электрические свойства 53
- Наноматериалы 310
 - методы синтеза 312
 - потенциальная опасность 321
 - реакция клеток 181
 - токсичность 331
- Наноматериалы биомедицинского назначения 179
- Наноструктурированный графит 95
- Нанотрубки, хиральность 21
- Натуральные волокна, свойства при растяжении 164
- Некроз 329
- Нелинейный сдвиговый отклик 78
- Обесклеивание 163
- Обращенная газовая хроматография 339
- Огнестойкость 125
- Огнеупорные материалы 136
- Огнеупорные полимерные нанокompозиты
 - направление исследований 141
 - получение 139
- Одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) 18, 320, 333, 360
 - модуль упругости 23, 24
 - модуль Юнга 20
- Определение цитотоксичности по конечной точке 343
- Органомодифицированные слоистые силикаты (ОМСС) 218
- Остеоиндуктивность 195
- Остеокондуктивность 195
- Плазмоны 58
 - энергия 58, 59
- Плоскость скольжения 343
- Полигидроксibuтират (ПГБ) 213
 - нанокompозиты 219
 - свойства 214
 - способы оптимизации переработки 215
- Поливинилхлорид 103
- Полигидроксикалкоаноаты (ПГА) 189, 212
 - производство и применение 216
 - свойства 214
 - синтез 213
- Полигликолевые кислоты (ПГК) 183, 189, 195
- Поликапролактон (ПКЛ) 72, 183, 192, 198
- Полимеризация *in situ* 102, 105, 219
- Полимерные композиты, электропроводность 93
- Полимерные нанобиокompозиты, применение 194
- Полимерные нанокompозиты
 - влияние адгезии между нановолокном и матрицей на свойства 47
 - горючесть 126
 - методы исследования свойств 108
- Полимерные наночастицы 314
- Полимеры на основе эластина, применение 282
- Полиметилметакрилат (ПММА) 103, 113, 135
- Полимолекулярная кислота (ПМК) 172, 189, 284, 294
- Полиэдральный олигомерный силесквиоксан 134
- Полиэтиленоксид 192
 - композиты с хитозаном 199
- Порог перколяции 111
- Потенциал Терсоффа–Бреннера 21
- Природные биополимеры 184
- Природные волокна
 - животные 161
 - минеральные 161
 - растительные 161
- Природные слоистые силикаты 304
- Пролиферация клеток 181, 188
 - анализ 198, 351

- Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) 109, 268, 337, 339
- Протеин шелка 187
- Рассасываемость биокмпозитов 168
- Расширенный графит 98
- галереи 96, 103, 105, 217
- Реактивные формы кислорода (РФК) 350
- Реактопласты 37
- Рентгеновская флуоресценция 339, 340
- Реометрия 110
- Ротационная диффузионная способность 77
- Сажа 317
- Самоорганизация 97, 193
- тропоэластина 253
- Сверхпрочные нанокомпозиы 29
- Сдвиговое напряжение Марангони 64
- Синтетические биополимеры 189
- Синтетические полимеры 192
- Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) 109, 339
- в режиме естественной среды 339
- Слоистые нанокомпозиы
- интеркалированные системы 127
- микрокомпозиы 127
- расслоенные нанокомпозиы 127
- Слоистые силикаты 75, 79, 85, 127
- структура 217
- Смешение в расплаве 107
- Смешение в растворе 106
- Спектральные методы в ультрафиолетовой и видимой области 339
- Спектроскопия характеристических потерь энергии электрона (СХПЭЭ) 58
- Старение материала 79, 84, 143
- Стоксово комбинационное рассеяние света 341
- Структура эластина, редукционистский подход к изучению 248
- Тактоиды 126
- Текучесть полимеров в пламени 125
- Термогравиметрический анализ 110
- Термомеханический анализ 110
- Термопластичный крахмал 212
- Термопласты 37
- Технический углерод 317
- Технологии генной инженерии 179
- Тканевая инженерия 178
- Токсикологический анализ 330
- Токсическое действие материалов 321, 322, 330
- острое 330
- роль примесей и площади поверхности частиц 362
- роль размера частиц 352
- способы оценки 326
- хроническое 330
- Токсичность наноматериалов 331
- подходы к изучению 371
- Тропоэластин 273
- биологическая активность 280
- самосборка 253
- Турбостратный углерод 56, 364
- Углерод с луковичной структурой 316
- Углеродные волокна 317, 332
- Углеродные нановолокна 38, 42, 332
- поверхностная модификация 48
- Углеродные наноматериалы 352
- Углеродные нанотрубки (УНТ) 319, 332
- предсказание свойств 20
- шарнирная модель 25
- Углерод, турбостратная структура 353
- Уравнение Шеррера 342
- Уравнения Вильямса–Ленделла–Ферри 79

- Фагоцитирующие клетки** 323, 329
Фагоцитоз 324, 333
Фактор токсичности 366
Фибробласты 328
Фиброин 163
Флуоресцентная микроскопия 345
Флуоресценция в двойном режиме 369
Фрактальный белок 249
Фуллерен 318, 319, 337
- Хемотаксическая активность** 281
Химическое осаждение из газовой фазы (CVD) 317, 320
Хитозан 167, 186
- Целлюлозные волокна** 299
- Шелк** 162, 187
Шелковые волокна 162
– механические свойства 163
– применение 165
- Шелковый серицин** 162
- Экотоксичность** 210
Эксперимент малоуглового нейтронного рассеяния 88
Эксфолиация графита 97, 105, 112
Эластин 267, 269
– методы изучения микроструктуры 256
– молекулярная структура 245
– надмолекулярная структура 252
Эластиновые волокна 267
– структурная организация 268
Эластичность 267
Электропроводность 93, 94, 113
Электропроводящие полимерные материалы 93
Электропрядение 181
Энергия объемного плазмона 58
Энергия связи 22
2,2,2-Трифторэтанол (ТФЭ) 250, 255

Минимальные системные требования определяются соответствующими требованиями программы Adobe Reader версии не ниже 11-й для платформ Windows, Mac OS, Android, iOS, Windows Phone и BlackBerry; экран 10"

Научное электронное издание

Серия: «Нанотехнологии»

НАНО- И БИОКОМПОЗИТЫ

Ведущий редактор канд. хим. наук *Д. К. Новикова*

Художник *Н. А. Новак*

Технический редактор *Е. В. Денюкова*

Корректор *Е. Н. Клитина*

Компьютерная верстка: *В. А. Носенко*

Подписано к использованию 19.03.15. Формат 145×225 мм

Издательство «БИНОМ. Лаборатория знаний»

125167, Москва, проезд Аэропорта, д. 3

Телефон: (499) 157-5272

e-mail: info@pilotLZ.ru, <http://www.pilotLZ.ru>

Данная книга посвящена широкому кругу вопросов, касающихся получения и применения наноструктурированных полимерных композитов и нанобиокомпозитов, и дает читателю представление о современном состоянии исследований, направленных на создание усовершенствованных материалов и биомедицинских технологий.

Авторский коллектив состоит из ученых США, Франции, Италии, Германии, Китая и Японии.